

**Univerzita Karlova v Praze  
Lékařská fakulta v Hradci Králové**

**DISERTAČNÍ PRÁCE**

**Univerzita Karlova v Praze  
Lékařská fakulta v Hradci Králové**

**Doktorský studijní program  
Klinická onkologie a radioterapie**

**Prognostický vliv změny exprese receptoru pro epidermální růstový faktor u pacientů  
léčených předoperační radiochemoterapií pro adenokarcinom rekta**

**The prognostic significance of change of the epidermal growth factor receptor  
expression in patients with rectal adenocarcinoma treated with neoadjuvant  
radiochemotherapy**

**MUDr. Igor Richter**

Školitel: Doc. MUDr. Josef Dvořák, Ph. D.

Hradec Králové, 2014

Obhajoba dne: .....  
(doplň studijní odd.)

## **Prohlášení:**

Prohlašuji tímto, že jsem doktorskou disertační práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje. Zároveň dávám souhlas k tomu, aby tato práce byla uložena v Lékařské knihovně Lékařské fakulty UK v Hradci Králové a zde užívána ke studijním účelům za předpokladu, že každý, kdo tuto práci použije pro svou publikační nebo přednáškovou činnost, se zavazuje, že bude tento zdroj informací řádně citovat.

Souhlasím se zpřístupněním elektronické verze mé práce v informačním systému Univerzity Karlovy v Praze.

**Liberec, 29.9. 2014**

## Poděkování

Je pro mě milou povinností upřímně poděkovat všem, kteří mně pomohli při vzniku disertační práce.

V první řadě děkuji mému školiteli Doc. MUDr. Josefu Dvořákovi, Ph. D. za příkladné vedení a pomoc v mém studiu. Předkládaná práce by nikdy nemohla vzniknout bez jeho pomoci.

Děkuji MUDr. Jiřímu Bartošovi, MBA, přednostovi Komplexního onkologického centra Krajské nemocnice Liberec, a. s., který mně vytvořil podmínky k mému doktorskému studiu.

Děkuji patologům MUDr. Marekovi Urbancovi a prim. MUDr. Antonínovi Blümlovi a kolektivu laborantů patologie, kteří se podíleli na laboratorním vyšetření pacientů.

Děkuji RNDr. Evě Čermákové z Ústavu biofyziky a informatiky Lékařské fakulty v Hradci Králové za pomoc se statistickým zpracováním.

Děkuji prof. MUDr. Jiřímu Peterovi, Ph. D, přednostovi Kliniky onkologie a radioterapie FN Hradec Králové za umožnění studovat doktorský program Klinická onkologie a radioterapie na Lékařské fakultě UK v Hradci Králové.

Děkuji Vědecké radě Krajské nemocnice Liberec, a. s. za finanční podporu mého studia.

Děkuji prof. MUDr. Stanislavu Filipovi, D. Sc. za poskytnutí finančních prostředků v mém studiu.

V neposlední řadě děkuji své manželce MUDr. Sylvii Richterové a mým dětem Igoru, Iljovi a Andreju Richterovi za cenný čas, který jsem při studiu nemohl trávit s nimi.

## Obsah

Prohlášení: .....	4
Poděkování .....	5
Zkratky používané v dalším textu .....	7
Souhrn .....	9
Summary .....	12
1. Úvod do problematiky .....	15
1.1. Léčebná strategie adenokarcinomu rekta .....	18
1.2. Význam radioterapie v léčbě adenokarcinomu rekta .....	20
1.3. Předoperační radiochemoterapie .....	22
1.4. Potenciace radioterapie chemoterapií .....	23
1.5. Alternativní frakcionační režimy .....	30
1.6. Toxicita léčby .....	35
1.7. Receptor pro růstový epidermální faktor .....	37
1.7.1. EGFR a radioterapie .....	39
1.7.2. Prognostický vliv exprese EGFR u pacientů s adenokarcinomem rekta .....	40
1.7.3. Možnosti inhibice receptoru pro epidermální růstový faktor .....	41
1.7.4. Předoperační radiochemoterapie a inhibitory EGFR .....	42
2. Cíle práce .....	46
3. Soubor pacientů a použitá metodika .....	47
3.1. Soubor pacientů .....	47
3.2. Radioterapie .....	52
3.2.1. Cílový objem .....	52
3.2.2. Kritické orgány .....	57
3.2.3. Technika a plánování radioterapie .....	57
3.3. Chemoterapie .....	59
3.4. Chirurgický výkon .....	59
3.5. Hodnocení léčebné odpovědi .....	59
3.6. Imunohistochemické vyšetření exprese EGFR a hodnocení .....	59
3.7. Statistické hodnocení dat .....	65
4. Výsledky .....	66
4.1. Celkové přežití .....	69
4.2. Přežití bez známek recidivy .....	70
4.3. Receptor pro epidermální růstový faktor (EGFR) .....	71
4.4. Multivariační analýza prognostických faktorů na léčebné výsledky .....	80
4.5. Toxicita léčby .....	82
5. Diskuze .....	85
5.1. Radiochemoterapie karcinomu rekta .....	85
5.2. EGFR a radioterapie karcinomu rekta .....	90
5.3. Vlastní soubor .....	93
6. Závěr .....	96
7. Literatura .....	97
Seznam obrázků .....	115
Seznam tabulek .....	115

## **Zkratky používané v dalším textu**

**AP** - (předozadní) anteroposteriální

**ATM** - Ataxia telangiectasia mutated

**BEV** - pohled na cílový objem se zdroje svazku záření (beam eye view)

**CAPOX** - chemoterapeutický režim (kapecitabin, oxaliplatina)

**CEA** - karcinoembryonální antigen

**CI** - confidence interval

**CR** - kompletní remise

**CRM** - cirkumferenční laterální okraj

**CT** - počítačová tomografie

**CTV** - klinický cílový objem

**Da** - Dalton

**DFS** - disease free survival, přežití bez známek recidivy

**DNA** - deoxyribonukleová kyselina

**EGF** - epidermální růstový faktor

**EGFR** - receptor pro epidermální růstový faktor

**ELISA** - Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

**FISH** - Fluorescenční in situ hybridizace

**FOLFIRI** - chemoterapeutický režim (irinotekan, 5-fluorouracil, leukovorin)

**FOLFOX** - chemoterapeutický režim (oxaliplatina, 5-fluorouracil, leukovorin)

**5-FU** - 5-fluorouracil

**Gr** - grading

**GTV** - nádorový cílový objem

**Gy** - gray

**HB – EGF** - hepar building epidermal growth factor

**HR** - hazard ratio

**HRP** - Horseradisch peroxidase

**IGF-1** - růstový faktor podobný inzulinu

**IHC** - imunohistochemie

**IMRT** - radioterapie s modulovanou intenzitou svazku

**JAK/STAT** - Janus Kinase/Signal Transduction and Activator of Transcription

**K - RAS** - Kirsten rat sarcoma viral oncogene

**LD** - ložisková dávka

**LR** - lokální recidiva  
**MAPK** - mitogenně aktivovaná proteinkináza  
**MeV** - megaelektronvolt  
**MRI** - magnetická rezonance  
**N –RAS** - neuroblastoma rat sarcoma viral oncogene  
**NS** - nesignifikantní  
**OR** - odds ratio  
**OS** - celkové přežití (overall survival)  
**p value** - p hodnota  
**pCR** - patologické kompletní remise  
**PD** - progres onemocnění  
**PET** - pozitronová emisní tomografie  
**PFS** - přežití bez známek progres onemocnění (progression free survival)  
**PI3K/AKT** - Phosphatidyl-3-kinase/akt (signální cesta)  
**PLC/PKC** - Phospholipase C/ protein kinase C  
**PR** - parciální remise  
**PTV** - plánovací cílový objem  
**RAS** - rat sarcoma viral oncogene  
**RCH** - radiochemoterapie  
**RNA** - ribonukleová kyselina  
**RT** - radioterapie  
**SD** - stabilizace onemocnění  
**SSS** - sfinkter šetřící operace  
**TD** - celková dávka  
**TGF- $\alpha$**  - transforming growth factor alfa  
**TME** - totální mesorektální excize  
**TKI** - tyrosine kinase inhibitors  
**VEGF** - endotelový růstový faktor  
**VEGFR** - receptor pro endotelový růstový faktor  
**vs** - versus  
**XRCC1** - X-ray repair cross-complementing protein 1



## Souhrn

**Cíl:** Cílem předkládané disertační práce bylo zhodnocení prognostického vlivu změny exprese receptoru pro epidermální růstový faktor (EGFR) u pacientů léčených předoperační radiochemoterapií pro lokálně pokročilý karcinom rekta. Exprese EGFR byla hodnocena jednak v endobiopsii před zahájením radiochemoterapie, jednak v definitivním resekátu po předoperační radiochemoterapii a chirurgickém výkonu.

**Pacienti a metody:** Od ledna 2005 do prosince 2009 bylo v rámci Onkologického oddělení Nemocnice Liberec léčeno celkem 59 pacientů předoperačním ozářením pro adenokarcinom rekta s potenciací kapecitabinem. Bylo hodnoceno 50 pacientů: 34 mužů a 16 žen. Devět pacientů nebylo hodnoceno pro nekompletní klinické a patologické údaje. Průměrný věk byl 61,4 roku (rozmezí 40-78 let). Histologicky se jednalo o tubulární adenokarcinom u všech 50 pacientů. U 3 pacientů byla popsána mucinózní složka. Histologicky byl nádor dobře diferencovaný u 3 pacientů, středně diferencovaný u 38 pacientů a málo diferencovaný u 9 pacientů. Podle anatomické sublokalizace nádoru mělo 24 pacientů distální okraj tumoru uloženo do 5 cm od vnitřního svěrače, stejný počet pacientů mezi 5,1 a 10 cm. Distální okraj tumoru nad 10 cm byl popsán u 2 pacientů. Před zahájením předoperační radiochemoterapie bylo 28 pacientů ve II. klinickém stadiu a 22 pacientů ve III. klinickém stadiu dle TNM klasifikace. Zdrojem záření byl lineární urychlovač Elekta Precise nebo Elekta Synergy (Elekta, Švédsko). Bylo využito fotonové ionizující záření o energii 15 MeV. Pacienti byli ozařováni technikou 3D konformní radioterapií nebo IMRT s využitím segmentovaných polí. U všech pacientů byla aplikovaná celková dávka 44 Gy (frakcionace po 2 Gy) ve 22 frakcích na oblast tumoru, mesorekta a pánevních spádových lymfatických uzlin. Konkomitantně byl podáván kapecitabin v dávce  $825 \text{ mg/m}^2$  ve dvou denních perorálních aplikacích po celou dobu radioterapie. Chirurgický výkon byl indikován s odstupem 4-8 týdnů od ukončení radiochemoterapie. Exprese EGFR byla stanovena imunohistochemicky. Hodnocení bylo semikvantitativní a byla hodnocena intenzita zbarvení minimálně 1% nádorových buněk: 0 = žádná, 1 = slabá, 2 = střední, 3 = silná. U pacientů byly hodnoceny jednak endobiopsické nálezy před zahájením léčby, jednak chirurgické resekáty po předoperační radiochemoterapii a operačním řešení. Ke statistickému zhodnocení byl použit program Number Cruncher Statistical Systems NCSS 9 (Kaysville, Utah, USA). Celková doba přežití (OS) = doba od stanovení diagnózy po úmrtí nebo do dne poslední kontroly u přeživších. Přežití bez známek recidivy (DFS) = doba od operace do objevení recidivy nebo poslední kontroly u pacienta bez

recidivy. Celkové přežití a přežití bez známek recidivy bylo hodnoceno pomocí Kaplan-Meierovy analýzy. Při zhodnocení vlivu exprese EGFR na léčebné výsledky (OS, DFS) byl použit log-rank test. Všechny statistické testy byly hodnoceny na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

**Výsledky:** Všech 50 pacientů absolvovalo radioterapii bez přerušení do celkové plánované dávky. Ani jeden pacient v průběhu léčby nezemřel. Konkomitantní chemoterapie byla předčasně ukončená u 4 pacientů z důvodů hematologické a gastrointestinální toxicity. Ani jeden pacient nebyl akutně hospitalizován z důvodu toxicity léčby. Při hodnocení nehematologické toxicity nebyl prokázán stupeň III nebo IV. Anémie stupně III byla vyjádřena u jednoho nemocného. Medián doby mezi ukončením radiochemoterapie a operací byl 44 dnů (6,3 týdne). U 30 pacientů byl proveden svěrač šetřící výkon, 20 pacientů podstoupilo amputaci konečníku. Ani jeden pacient nebyl posouzen chirurgem jako inoperabilní. R0 resekce byla provedena u 47 pacientů, mikroskopický pozitivní okraj byl popsán patologem u 3 pacientů. U žádného pacienta nebylo ponecháno chirurgem makroskopické reziduum. Podle patologické TNM klasifikace bylo po operaci v prvním klinickém stadiu 14 pacientů, ve druhém klinickém stadiu 24 pacientů, ve třetím klinickém stadiu 8 pacientů. U 4 pacientů byla dosažena kompletní patologická remise onemocnění. Patologická kompletní remise byla definovaná jako absence nádorové tkáně v preparátu. Downstaging byl popsán u 30 pacientů. Dvacetšest pacientů mělo parciální remisi, 15 pacientů mělo stabilizaci onemocnění. Progrese onemocnění byla popsána u 5 pacientů. U žádného pacienta nebyla popsána peroperačně generalizace onemocnění. V době hodnocení (k 31.12.2013) se objevila recidiva u 25 pacientů, 25 pacientů bylo bez známek recidivy. U 8 pacientů byla popsána lokální recidiva, generalizace onemocnění byla popsána u 17 pacientů. Nejčastějším místem výskytu metastáz byla játra (8 pacientů) a plíce (7 pacientů). Jeden pacient měl metastatické postižení mozku, 1 pacient měl metastaticky postižené retroperitoneální lymfatické uzliny. Medián přežití bez známek recidivy činil 64,9 měsíce (95% CI: 26,1 – 67,8 měsíce). 5-ti leté přežití bez známek recidivy bylo hodnoceno u 34 pacientů a činilo 32,35 %. 3leté přežití bylo hodnoceno u všech pacientů a představovalo 56 %. Celkem zemřelo 21 pacientů, žilo 29 pacientů. Medián celkového přežití činil 76,4 měsíce (95% CI: 57,3 – 76,9 měsíce). 5-ti leté celkové přežití bylo hodnoceno u 35 pacientů a činilo 48,57 %. 3leté přežití bylo hodnoceno u všech pacientů a představovalo 92 %. V rámci hodnocení změny exprese EGFR bylo hodnoceno 46 pacientů. U 4 pacientů nebyla změna exprese EGFR hodnocena, protože byla dosažena patologická kompletní remise po

předoperační radiochemoterapii. Zvýšení exprese EGFR bylo zjištěno u 12 pacientů. U 34 pacientů nebylo zvýšení exprese EGFR pozorováno. Byla zjištěna statisticky významně kratší doba celkového přežití a přežití bez známek recidivy u pacientů se zvýšením exprese EGFR ve srovnání s pacienty, kde nebylo pozorováno zvýšení exprese EGFR během předoperační radiochemoterapie. Medián celkového přežití u pacientů se zvýšenou expresí EGFR činil 41,1 měsíce (95% CI 39,1 – 47,0 měsíce). Medián celkového přežití u pacientů bez zvýšení exprese EGFR činil 76,9 měsíce (95% CI 76,4 – 76,9 měsíce, log-rank test:  $p < 0,0001$ ). Medián přežití bez známek recidivy u pacientů se zvýšením exprese EGFR činil 13,7 měsíce (95% CI 3,8 – 15,8 měsíce). Medián přežití bez známek recidivy u pacientů bez zvýšení exprese EGFR činil 67,8 měsíce (95% CI 55,7 – 67,8 měsíce, log-rank:  $p < 0,0001$ ).

**Závěr:** Zvýšená exprese EGFR během předoperační radiochemoterapie pro lokálně pokročilý adenokarcinomu rekta je významně spojena s kratší dobou celkového přežití a přežití bez známek recidivy.

## Summary

**Aim of the study:** The aim of this retrospective study was to determine the prognostic impact of EGFR expression changes during neoadjuvant chemoradiotherapy in patients with locally advanced rectal cancer, by comparison of EGFR expression in pretreatment endoscopic biopsies and resection specimens after neoadjuvant chemoradiotherapy.

**Material and methods:** Between January 2005 and December 2009 a total of 59 patients were treated with preoperative radiation for rectal adenocarcinoma potentiated with capecitabine in the Department of Oncology, Liberec Hospital. 50 patients, 34 men and 16 women, were evaluated. Nine patients were not evaluated because of incomplete clinical and pathological data. The mean age was 61.4 years (range 40-78 years). Microscopically, tubular adenocarcinoma was identified in all 50 patients. Mucinous component was described in 3 patients. Histologically, the tumour was a well-differentiated adenocarcinoma in 3 patients, moderately differentiated in 38 patients, and poorly differentiated in 9 patients. As far as the anatomical site is concerned, 24 patients had a distal tumour margin localised as far as 5 cm from the internal sphincter, the same number of patients had between 5.1 and 10 cm. The case of the distal edge of the tumour penetrating more than 10 cm was described in 2 patients. Before the neoadjuvant chemoradiotherapy started, 28 patients were in the second clinical stage and 22 patients in the third clinical stage according to the TNM classification. The source of radiation was a linear accelerator Elekta Precise or Elekta Synergy (Elekta, Sweden). We used ionising photon radiation with the energy of 15 MeV. Patients were irradiated using the 3D conformal radiotherapy technique, or IMRT, using segmented fields. All the patients were administered the total dose of 44 Gy (fractionation of 2 Gy) in 22 fractions to the tumour area, mesorectum and pelvic regional lymph nodes. Capecitabine was concomitantly administered with a dosage of 825 mg/m<sup>2</sup> in two daily oral administrations for the whole duration of radiotherapy including weekends. Surgery was indicated at intervals of 4-8 weeks from the completion of chemoradiotherapy. Immunohistochemical determination of EGFR expression was semi-quantitative and colour intensity of at least 1% of tumour cells was assessed: 0 = none, 1+ = mild, 2+ = moderate, 3+ = severe. The commercial kit (EGFR PharmDx™, Dako, Denmark) was used. Slides were evaluated by an experienced pathologist who was not familiar with the treatment results of patients. Endobioptic findings before treatment as well as resection specimens after neoadjuvant chemoradiotherapy and surgical treatment were analysed in our patient's group. The statistical evaluation was performed using the Number Cruncher Statistical Systems 9 NCSS (Kaysville, Utah, USA) program. Overall

survival (OS) = time from the first histological verification till the death or the date of the last check for survivors. Disease-free survival (DFS) = time from surgery to distant or local recurrence or the last control of a patient without recurrence. The overall survival and disease-free survival was assessed using Kaplan-Meier analysis. The impact of EGFR expression on treatment outcomes (OS, DFS) was assessed by the log -rank test. All the statistical tests were performed at the significance level  $\alpha = 0.05$ .

**Results:** All of 50 patients received radiotherapy without interruption up to the total planned dose. No patient died during the treatment. Concomitant chemotherapy was discontinued prematurely in 4 patients because of hematologic and gastrointestinal toxicity. No patient was hospitalized because of acute treatment toxicity. Non-haematological toxicity evaluation did not achieve the grade III or IV. Anaemia grade III was found in one patient. The median time between chemoradiotherapy completion and surgery was 44 days (6.3 weeks). In 30 patients sphincter-saving surgery was performed, 20 patients underwent amputation of the rectum. R0 resection was performed in 47 patients, microscopically positive margin was described by a pathologist in 3 patients. There was no surgically macroscopic residue left in any patient. According to the pathological TNM classification, 14 patients were at the first clinical stage, 24 patients in the second clinical stage and 8 patients in the third clinical stage after the operation. 4 patients achieved complete pathological remission. Complete pathologic response was defined as the absence of tumour tissue in the specimen. No patient had the generalisation of the disease described intraoperatively. Downstaging was described in 30 patients, 26 patients had partial remission. The disease was stable in 15 patients. Progression was reported in 5 patients. At the time of assessment (31 December 2013) was median follow-up 51.3 months. A recurrence was occurred in 25 patients, 25 patients had no signs of recurrence. A local recurrence was found in 8 patients, generalisation of disease was reported in 17 patients. The most common site of metastases were the liver (8 patients) and lungs (7 patients). 1 patient suffered from brain metastases, metastatic involvement of retroperitoneal lymph nodes was found in 1 patient. The median DFS was 64.9 months (95 % CI: 26.1 to 67.8 months). The 3-year DFS was 56 %. A total of 21 patients died, 29 patients remained alive. The median of OS was 76.4 months (95 % CI: 57.3 to 76.9 months). The 3-year OS was 92 %. EGFR expression was examined both by endobiopsy and in resection specimens after neoadjuvant chemoradiotherapy. 46 patients were enrolled into the evaluation of EGFR expression changes. In 4 patients no change expression of EGFR was evaluated because pathologic complete response was achieved after neoadjuvant chemoradiotherapy. Increased EGFR

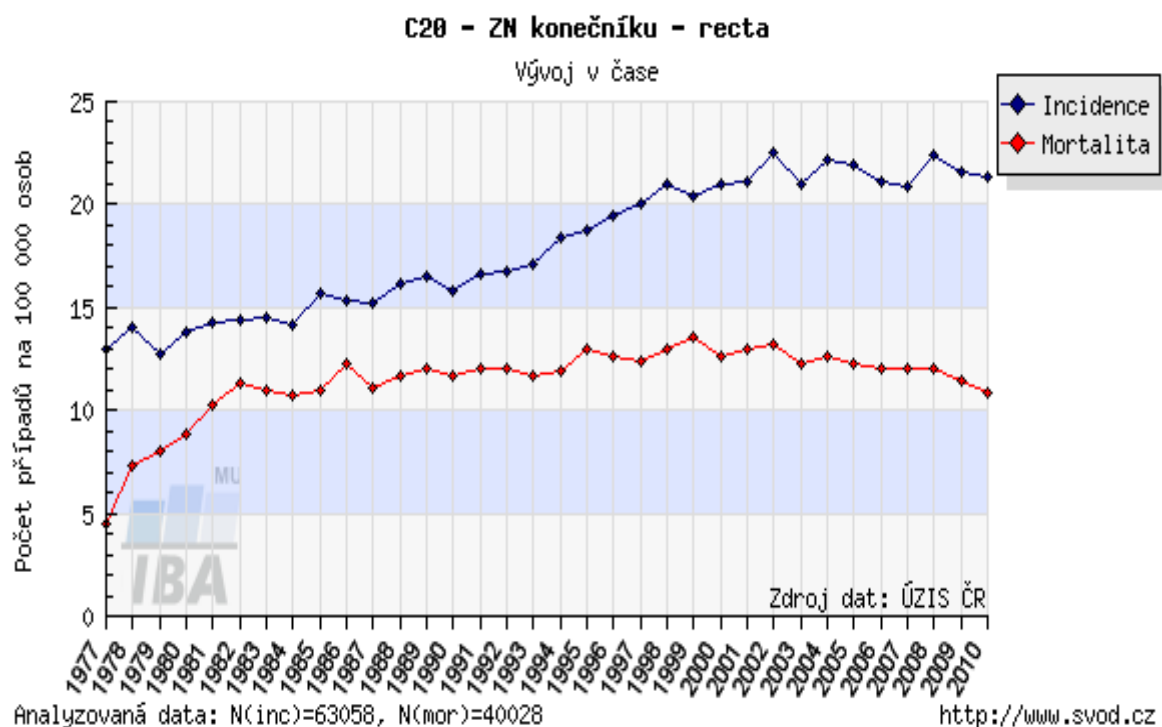
expression was found in 12 patients. In 34 patients no increased expression of EGFR was observed (23 patients without any change of EGFR expression, 11 patients with a decrease of EGFR expression). Statistically significantly shorter OS and DFS was found in patients with increased expression of EGFR compared with patients where no increase expression of EGFR during neoadjuvant chemoradiotherapy was observed. The median OS in patients with increased EGFR expression was 41.1 months (95 % CI 39.1 to 47.0 months). The median OS for patients without the increased expression of EGFR was 76.9 months (95 % CI 76.4 to 76.9 months, log -rank test:  $p < 0.0001$ ). The median DFS in patients with increased EGFR expression was 13.7 months (95 % CI 3.8 to 15.8 months). The median DFS in patients without increased EGFR expression was 67.8 months (95 % CI, 55.7 to 67.8 months, log-rank  $p < 0.0001$ ).

**Conclusions:** The increase of EGFR expression during neoadjuvant chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer is associated with significant shorter overall survival and disease-free survival.

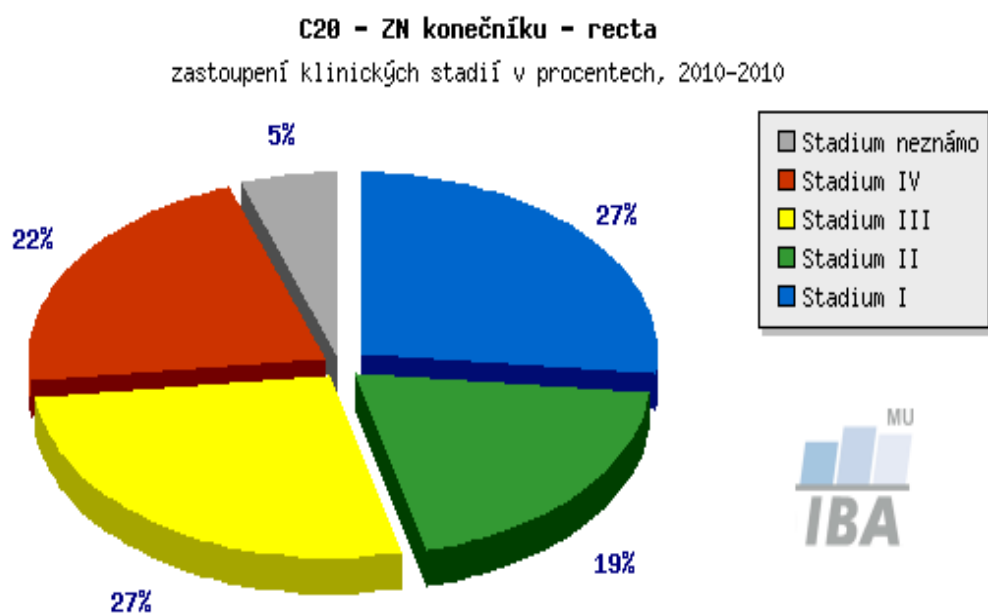
## 1. Úvod do problematiky

Adenokarcinom rekta se řadí mezi nejčastěji se vyskytující zhoubná onemocnění v České republice. V roce 2010 byla incidence zhoubných nádoru konečníku 21,33 na 100 000 obyvatel, mortalita byla 10,82 na 100 000 obyvatel (obr. č. 1). Muži onemocnění karcinomem konečníku 1,97 krát častěji než ženy [1]. Podle klinického stadia dle TNM klasifikace bylo zastoupení I. klinického stadia 26,6 %, II. klinického stadia 19,4 %, III. klinického stadia 27,2 %, IV. klinického stadia 21,6 %. U 5,2 % nebylo klinické stadium známo (obr. č. 2) [1, 2]. Věkové rozložení incidence karcinomu konečníku je na obr. č. 3 [1].

Obr. č. 1. Incidence a mortalita zhoubných nádoru konečníku [1].



Obr. č. 2. Zastoupení klinických stádií v roce 2010 [1].



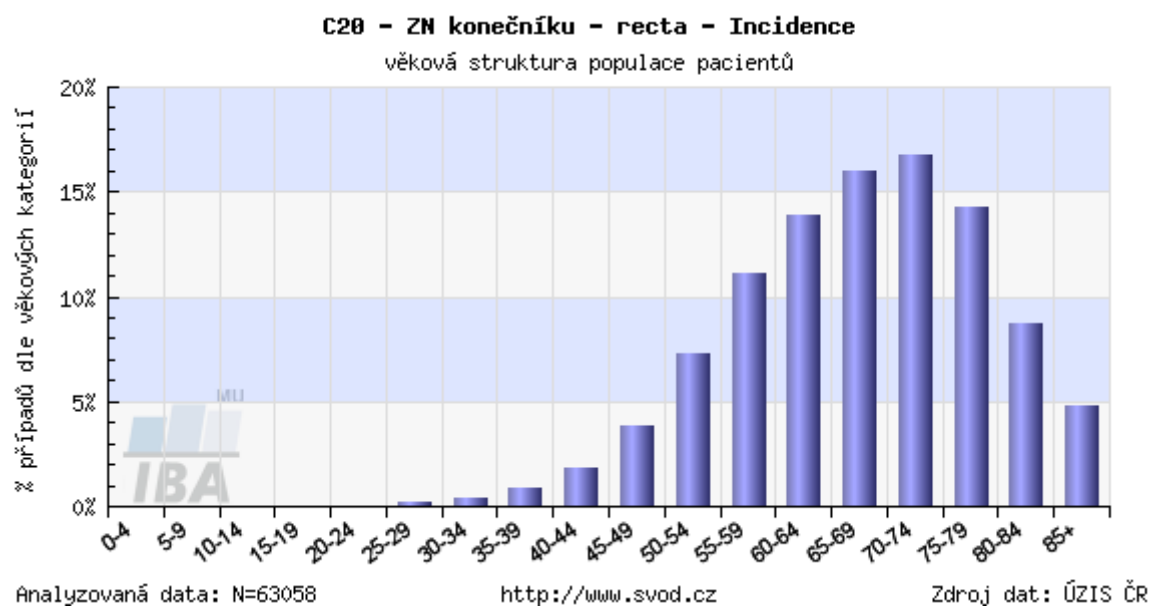
Analyzovaná data: N=2247

Zdroj dat: ÚZIS ČR

<http://www.svod.cz>



Obr. č. 3. Incidence zhoubných nádorů konečníku podle věku [1].



Adenokarcinom rekta je v literatuře řazen po stránce epidemiologické, etiologické a histologické do skupiny kolorektálního karcinomu [3]. Léčebný postup karcinomu rekta ale není totožný s léčebným postupem karcinomu tlustého střeva. U zhoubných nádorů konečníku dochází nejenom ke vzdálené diseminaci nemoci, ale i častým výskytem lokálních recidiv. Tato skutečnost souvisí s anatomickým uložením konečníku v pánevní oblasti a jeho těsným vztahem k pánevním strukturám, kde může docházet přesunu nádorových buněk do stěn pánve. Riziko lokální recidivy lze zmenšit radioterapií [4]. Lokální recidivy karcinomu rekta se u I. klinického stadia vyskytují v 5-10%, u II. stadia ve 25-30% a u III. stadia ve více než 50% [5]. Nejčastějším místem výskytu lokálních recidiv je presakrální oblast, kde jsou lokální recidivy obtížně léčebně ovlivnitelné. Hematogenní diseminaci se karcinomu rekta obvykle šíří hlavně do jater a plic, méně často do mozku, skeletu nebo dalších orgánových systémů [6]. Hlavními prognostickými faktory karcinomu konečníku jsou klinické stadium v době diagnózy (podle TNM klasifikace), radikalita chirurgického výkonu, předoperační koncentrace CEA, nádorový grading, biologické vlastnosti nádoru (např. angioinvasze, mucinózní složka) [7]. V poslední době se hledají další prognostické i prediktivní faktory, hlavně s rozvojem poznání molekulární biologie. Mezi nejvýznamnější patří exprese EGFR, VEGF, exprese onkoproteinu p53, survivinu a jiných [6]. Cílem je více léčbu individualizovat, hlavně s využitím výše zmíněných biomarkerů. Mezi nejvíce studované biomarkery patří EGFR. Předkládaná disertační práce má za cíl zhodnotit prognostický význam změny exprese EGFR během předoperační radiochemoterapie u pacientů s lokálně pokročilým karcinomem rekta.

### **1.1. Léčebná strategie adenokarcinomu rekta**

Problematika léčby adenokarcinomu rekta je multidisciplinární [8]. Podílí se na ní chirurg, klinický a radiační onkolog, gastroenterolog, radiodiagnostik, případně další specialisté (patolog, lékař s odborností nukleární medicíny a jiní). Základním kurativním zákrokem je radikální chirurgický výkon. Pokud je nádor operabilní, následuje pokus o radikální resekci s lymfadenektomií. Standardem je provedení totální mesorektální excize. Lokální excize je možná v případě nádorů menších než 3 cm v průměru, které neinfiltrují svalovou vrstvu (T1 nádory) a nezajímají více než jednu třetinu obvodu konečníku. U pacientů s vysokým rizikem operace lze zvážit lokální výkon i u T2 low grade nádorů [9]. Riziko lokálních recidiv lze zmenšit především použitím radioterapie [4]. Zevní radioterapie je indikovaná pro zhoubné

nádory rekta s proximální hranicí ve vzdálenosti lokalizované kolonoskopicky cca 20-25 cm od anu. Jedná se o karcinomy, které jsou lokalizovány v mesorektu a jejichž regionální lymfatika jsou v oblasti pánve, a je tedy možné ozářit je v jednom cílovém objemu [10]. V současné době má v léčbě karcinomu konečníku největší uplatnění předoperační (neoadjuvantní) radiochemoterapie. Hlavním smyslem předoperační radiochemoterapie je umožnit dosáhnout negativní cirkumferenční (laterální) okraje při následně totální mesorektální excizi, protože pozitivní cirkumferenční okraj je hlavním rizikovým faktorem lokálního relapsu. Předoperační radioterapie je indikovaná u nemocných s tumorem T3-4, při postižení lymfatických uzlin, u nízké sedících tumorů, u hraničně resekabilních nebo neresekabilních nádorů s cílem dosažení operability [11]. Nejčastěji se indikuje normofrakcionační režim (5x 1,8-2,0 Gy týdně do celkové dávky 44 – 50,4 Gy). V případě stenozujících tumorů s rizikem střevní neprůchodnosti je indikováno provedení odlehčující stomie. Zkrácené režimy radioterapie 5x5 Gy za týden do celkové dávky 25 Gy s časnou operací lze zvážit u operabilních pacientů ve vyšším věku, při krvácejícím tumoru. Nelze očekávat downstaging, proto není režim vhodný pro hraničně operabilní tumor. Akcelerovaný režim je vhodný také u pacientů se synchronními vzdálenými metastázami, protože umožňuje včasné podání systémové léčby. Předoperační radiochemoterapie dosahuje významně nižší počet lokálních recidiv a má lepší toleranci než léčba pooperační [12, 13]. Operační řešení je indikováno s odstupem 6-8 týdnů od ukončení předoperační radiochemoterapie. V případě, že nebylo indikováno ozáření předoperačně, je radioterapie indikovaná pooperačně u pT3-4 onemocnění, při pozitivitě lymfatických uzlin, při neradikální resekci, při fixaci tumoru ke křížové kosti nebo ke stěnám pánevním. Adjuvantní radioterapii lze zvážit také u pT2 onemocnění s rizikovými faktory (např. grade III, angioinvaze, přítomnost mucinózní složky). Kombinace předoperační a pooperační radioterapie se nedoporučuje, protože nevede ke zlepšení léčebných výsledků a navíc zvyšuje morbiditu léčby. Kurativní radioterapii lze indikovat u pacientů s inoperabilním nádorem, při kontraindikaci chirurgické léčby nebo při odmítnutí operačního řešení pacientem. Paliativní ozáření má své nezastoupitelné místo v léčbě pokročilých karcinomů, u pacientů v celkově špatném stavu, v léčbě lokálních recidiv i v léčbě metastatického postižení. Nejčastějším místem výskytu vzdálených metastáz jsou játra, plíce, mozek a skelet [6]. V léčbě karcinomu rekta má významné zastoupení také systémová chemoterapie a cílená léčba. Systémová chemoterapie je indikovaná jednak v léčbě metastatického onemocnění, jednak v kombinaci s předoperační nebo pooperační radioterapií u lokálně pokročilého onemocnění. Cílená léčba je v současné době vyhrazena pro léčbu metastatického onemocnění v kombinaci s chemoterapií [14]. Kombinace cílené léčby a

chemoterapie přispěla k významnému prodloužení celkového přežití pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem [15].

## **1.2. Význam radioterapie v léčbě adenokarcinomu rekta**

Rozsáhlá metaanalýza 22 klinických studií od roku 1987 hodnotila postavení jak předoperační radioterapie (6350 pacientů), tak i pooperační radioterapie (2157 pacientů) v porovnání se samostatným chirurgickým výkonem [4]. Zařazení předoperační i pooperační radioterapie prokázalo významný pokles výskytu lokální recidivy ve srovnání se samotnou chirurgickou léčbou v 5 (12,5 versus 22,2 %,  $p < 0,00001$ ) i v 10 (16,7 versus 25,8 %,  $p < 0,00001$ ) letech. Předoperační radioterapie statisticky významně snižuje riziko lokální recidivy u pacientů, u kterých byla aplikovaná biologicky účinná dávka  $\geq 30$  Gy. Celkové přežití nebylo ovlivněno u pacientů léčených radioterapií ve srovnání se samostatným chirurgickým výkonem. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 1.

Tab. č. 1. Přínos radioterapie v porovnání se samotnou chirurgickou léčbou [4].

	Radioterapie + operace	Samostatná operace
OS (%)		
5leté	45	42,1
10leté	26,9	25,3
LR (%)		
5leté	<b>12,5</b>	22,2
10leté	<b>16,7</b>	25,8

(tlustě zvýrazněné hodnoty jsou statisticky významné)

### 1.3. Předoperační radiochemoterapie

Předoperační ozáření v porovnání s pooperačním ozářením má některé výhody. Předoperační léčba může být spojena s redukcí nádorového objemu s následním ulehčením resekčního výkonu. Teoreticky se zvyšuje pravděpodobnost dosažení sfinkter šetřícího výkonu. Dvě metanalýzy ale nepotvrdily tuto skutečnost ve smyslu zachování svěrače [16, 17]. Z radiobiologického hlediska je neoperovaná tkáň tumoru lépe prokrvená a okysličená s následně zvýšenou senzitivitou k radioterapii [18]. Při předoperační radioterapii je také menší riziko přesunu klíček tenkého střeva do ozařovacího objemu a je lepší compliance pacientů. Nevýhodou předoperační radioterapie je neznalost patologického rozsahu onemocnění, který může vést k nadbytečné indikaci radioterapie u časnějších stádií. Při využití precizních zobrazovacích metod jako magnetické rezonance nebo endosonografického vyšetření dochází k upřesnění stagingu. Hlavním smyslem neadjuvantní chemoradioterapie je umožnit dosáhnout negativního cirkumferenčního (laterálního) okraje při následně totální mesorektální excizi [10]. Teoreticky předpoklad ukazující výhody předoperačního ozáření ve srovnání s pooperačním ozářením dokumentuje klinická studie III. fáze (CAO/ARO/AIO-94) s 11letým sledováním pacientů. Klinická studie hodnotila 823 pacientů s klinickým stadiem II a III. Nemocní byli randomizováni v poměru 1:1 k předoperační radiochemoterapii nebo k pooperační radiochemoterapii. V rámci předoperační radiochemoterapie byla aplikovaná dávka 50,4 Gy v 28 frakcích, 5x týdně. Pooperační radiochemoterapie byla aplikovaná ve stejném léčebném režimu, navíc byl ale použit boost 5,4 Gy ve 3 frakcích na oblast lůžka nádoru. Léčba byla potencionována v obou ramenech podáním 5-FU kontinuální infuzí 1. a 5. týden ozařování. Nemocní léčení předoperační radiochemoterapií měli významně nižší výskyt lokálních recidiv (6 % versus 13 %,  $p = 0,006$ ) v 5 letech. Celkové přežití jako primární cíl studie bylo podobné v obou ramenech. Akutní toxicita stupně III a IV byla významně vyšší u nemocných léčených pooperační radiochemoterapií (40 % versus 27 %,  $p = 0,001$ ), podobně i chronická toxicita byla vyšší u pacientů s pooperační léčbou (24 % versus 14 %,  $p = 0,01$ ). Gastrointestinální toxicita byla hlavním typem akutní toxicity v průběhu radiochemoterapie [12]. Zlepšení v lokální kontrole onemocnění přetrvávalo i po 11 letech sledování. 10letá kumulativní incidence lokální recidivy byla významně nižší u pacientů léčených předoperační radiochemoterapií (7,1 % versus 10,1 %,  $p = 0,048$ ). 10leté celkové přežití bylo beze změn v obou skupinách, podobně i přežití bez známek nemoci nebo četnost výskytu vzdálených metastáz [13].

#### 1.4. Potenciace radioterapie chemoterapií

Při současné aplikaci chemoterapie a ozáření se může uplatnit aditivní efekt a senzibilizační efekt. Dále je popisována i prostorová kooperace, což znamená, že radioterapie má účinek lokální a chemoterapie působí eliminaci mikroskopické systémové choroby (mikrometastáz) [19]. V současné době je radioterapie potencovaná současným podáním 5-FU nebo kapecitabinu [5, 10, 20 - 22]. Proběhlo několik klinických studií, které hodnotily samostatnou radioterapii s konkomitantní radiochemoterapií. Klinická studie EORTC 22921 hodnotila 1011 pacientů s resekabilním karcinomem rekta rozsahu T3 nebo T4 ve 4 léčebných ramenech: a) samostatná předoperační radioterapie, b) předoperační radioterapie a adjuvantní chemoterapie, c) samostatná předoperační radiochemoterapie, d) předoperační radiochemoterapie a adjuvantní chemoterapie. Předoperační radiochemoterapie prokázala ve srovnání s předoperační radioterapií významně nižší výskyt lokálních recidiv a vyšší procento léčebné odpovědi [23]. Studie prokázala statisticky nevýznamný 4 % rozdíl na celkové přežití u pacientů léčených adjuvantní chemoterapií při mediánu sledování 5,4 roků ( $p = 0,12$ ). Novější data prokázala významný rozdíl v celkovém přežití po přidání adjuvantní chemoterapie jenom u stadia pT0-2 ( $p = 0,009$ ). Adjuvantní chemoterapie neměla vliv na výskyt lokální recidivy [24]. Další klinická studie FFCD 9203 hodnotila 762 pacientů s karcinomem rekta rozsahu T3 nebo T4. Nemocní byli léčeni předoperační radioterapií 45 Gy v 25 frakcích nebo předoperační radiochemoterapií ve stejné dávce s potenciací 5-FU. Radiochemoterapie prokázala významně nižší výskyt lokálních recidiv (8,1 % versus 16,5 %,  $p < 0,05$ ), významně vyšší počet kompletních patologických remisí (11,4 % versus 3,6 %,  $p < 0,05$ ). Celkové přežití nebylo ovlivněno. Toxicita stupně III a IV byla významně vyšší u nemocných léčených radiochemoterapií (14,6 % versus 2,7 %,  $p < 0,05$ ) [25]. Výsledky obou klinických studií jsou uvedeny v tabulce č. 2.

Tab. č. 2. Klinické studie hodnotící předoperační radiochemoterapii s předoperační radioterapií

Studie	Ramena	Follow-up	5-OS (%)	5-DFS (%)	5-LR (%)	pCR (%)	SSS (%)
EORTC 22921 [23]	Předop RT	5,4 let	64,8		17,1	14	52,4
	Předop RT + adj.CHT				9,6		
	Předop CHRT Předop CHRT + adj.CHT		65,8		<b>8,7</b> <b>7,6</b>	<b>5,3</b>	55,6
	Adj.CHT+ Adj.CHT -		67,2 63,2	58,2 52,2			
FFCD 9203 [25]	Předop RT	81 m	67,9	55,5	<b>16,5</b>	<b>3,6</b>	41,7
	Předop CHRT		67,4	59,4	<b>8,1</b>	<b>11,4</b>	42,3

(tlustě zvýrazněné hodnoty jsou statisticky významné)



V roce 2009 byla publikovaná metaanalýza hodnotící předoperační radioterapii s radiochemoterapií u pacientů s karcinomem konečníku ve II. a III. klinickém stádiu. Předoperační radiochemoterapie statisticky významně snížila incidenci lokálních recidiv a zvýšila počet kompletních patologických remisí. Současně bylo vyšší procento toxicity při léčbě radiochemoterapií. Celkové přežití nebylo ovlivněno [26]. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 3.

Tab. č. 3. Výsledky metaanalýzy hodnotící předoperační radiochemoterapii ve srovnání se samotnou radioterapií [26].

	Chemoradioterapie	Radioterapie	p hodnota
5letá incidence lokální recidivy (%)	<b>9,4</b>	16,5	p < 0,001
5leté přežití bez známek nemoci (%)	57,5	54,9	p < 0,27
5leté celkové přežití (%)	63,9	65,2	p = 0,58
Toxicita III a IV stupně (%)	<b>14,9</b>	5,1	p = 0,002
Kompletní patologická remise (%)	<b>11,8</b>	3,5	p < 0,001
Sfinkter zachovávající operace (%)	49,6	47,6	p = 0,29

(tlustě zvýrazněné hodnoty jsou statisticky významné)

Jako cytostatikum se v uvedených klinických studiích používal 5-FU nejčastěji v kontinuální infuzi po celou dobu radioterapie. Kapecitabin je perorální forma fluoropyrimidínu. Využívá vyšší koncentrace thymidinfosforylázy v nádorové tkáni ke konverzi na 5-FU než ve zdravé tkáni [27, 28]. Výhodou kapecitabinu je perorální aplikace u nemocných s insuficientním žilním vstupem bez nutnosti zavádění intravenozního portu. Kapecitabine patří mezi základní cytostatika v paliativní nebo adjuvantní léčbě karcinomu tlustého střeva a konečníku [29-31]. Klinická studie III. fáze hodnotila 401 pacientů s karcinomem rekta II. a III. stádia. Nemocní byli léčeni předoperační nebo pooperační radioterapií, která byla potencovaná jednak 5-FU, jednak kapecitabinem. 161 pacientů bylo léčeno předoperačně. Kapecitabin neprokázal horší výsledky než 5-FU ve smyslu 5letého celkového přežití (75,7 % versus 66,6 %,  $p = 0,053$ ). V této studii ale prokázal kapecitabin významně lepší výsledky 3letého přežití bez známek nemoci (75,2 % versus 66,6%,  $p = 0,034$ ) a významné nižší procento výskytu vzdálených metastáz (19 % versus 28 %,  $p = 0,037$ ). Výskyt lokálních recidiv byl bez rozdílů (6 % versus 7 %). Hand-foot syndrom byl významně častější u pacientů léčených kapecitabinem (31 % versus 2 %,  $p = 0,001$ ), leukopenie byla častější v ramenu 5-FU (25 % versus 35 %,  $p = 0,04$ ) [32]. Větší klinická studie hodnotila 1608 pacientů s karcinomem rekta II. a III. klinického stadia léčených předoperační radioterapií. Radioterapie byla potencovaná infuzním podáním 5-FU s nebo bez oxaliplatiny, nebo potenciací kapecitabinem s nebo bez oxaliplatiny. Nebyl prokázán žádný významný rozdíl v četnosti kompletní patologické remise, sfinkter šetřících výkonech, procentu léčebné odpovědi při zhodnocení 5-FU a kapecitabinu. Přidání oxaliplatiny prokázalo zvýšení toxicity. Léčbný efekt oxaliplatiny nebyl prokázán [33]. Výsledky jsou uvedeny v tabulkách č. 4 a 5.

Tab. č. 4. Výsledky klinické studie NSABP R0-4. Porovnání 5-FU a kapecitabinu bez ohledu na podání oxaliplatiny [33].

	5-FU	Kapecitabine
pCR (%)	18,8	22,2
SSS (%)	61,2	62,7
Chirurgický downstaging (%)	20,7	23,0
Toxicita, Gr III - IV (%)	11,2	10,8

(tlustě zvýrazněné hodnoty jsou statisticky významné)

Tab. č. 5: Výsledky klinické studie NSABP R0-4. Přínos oxaliplatiny na léčebné výsledky a toxicitu bez ohledu na kombinaci s 5-FU nebo kapecitabinu [33].

	Oxaliplatina ne	Oxaliplatina ano
pCR (%)	19.1	20.9
SSS (%)	63.6	60.4
Chirurgický downstaging (%)	23.0	19.2
Toxicita, Gr III – IV (%)	6.6	<b>15.4</b>

(tlustě zvýrazněné hodnoty jsou statisticky významné)

Oxaliplatina byla hodnocena v několika dalších klinických studiích III. fáze v rámci předoperační radiochemoterapie karcinomu rekta. Klinická studie STAR-01 hodnotila přidání oxaliplatiny k radioterapii potencované 5-FU. Nebyl prokázán rozdíl přidání oxaliplatiny v lepších léčebných výsledcích. Přidání oxaliplatiny ale významně zvýšilo toxicitu III. a IV. stupně (24 % versus 8 %,  $p = 0,001$ ) [34]. Další klinická studie ACCORD12/0405 Prodige 1 srovnávala radioterapii potencovanou kapecitabinem s radioterapii potencovanou kombinací kapecitabinu a oxaliplatiny. Patologická kompletní remise byla nevýznamně vyšší v režimu s oxaliplatinou (19,2 % versus 13,9%,  $p = 0,09$ ). Počet lokálních recidiv, přežití bez známek nemoci a celkové přežití ve 3 letech bylo podobné v obou ramenech. Toxicita stupně III a IV byla vyšší v ramenu s oxaliplatinou (25 % versus 13,9%,  $p = 0,001$ ). Nevýznamně vyšší procento patologické kompletní remise mohlo být ovlivněno i vyšší dávkou (50 Gy) v ramenu s oxaliplatinou než dávkou záření v ramenu se samotným kapecitabinem (45 Gy) [35]. Jediná klinická studie CAO/ARO/AIO-04 prokázala významně vyšší procento patologické kompletní remise po přidání oxaliplatiny k radioterapii potencované 5-FU (17 % versus 13%,  $p = 0,038$ ). Rozdíly v počtu kompletních odpovědí mohly být také způsobené různými schématy podání 5-FU mezi oběma léčebnými rameny [36]. Údaje o celkovém přežití a přežití bez známek nemoci zatím nejsou k dispozici. Na podkladě výše uvedených klinických studií oxaliplatina zatím není indikovaná v předoperační radiochemoterapii adenokarcinomu rekta. Dalším cytostatikem široce používaným v léčbě kolorektálního karcinomu je irinotekan. Preklinické studie potvrdily jeho radiosenzibilizační vlastnosti [37, 38]. Randomizovaná klinická studie II. fáze porovnávala u 106 pacientů potenciaci předoperační radioterapie jednak 5-FU, jednak kombinací 5-FU a irinotekanu. Patologická kompletní remise jako primární cíl studie byla identická v obou ramenech (26 %), podobně identické bylo i procento léčebné odpovědi (78 %). Toxicita byla výraznější v ramenu s irinotekanem [39]. Irinotekan v současné době není indikován v kombinaci s radioterapií v předoperační radiochemoterapii adenokarcinomu rekta.

### 1.5. Alternativní frakcionační režimy

V rámci předoperační radiochemoterapie adenokarcinomu rekta se nejčastěji používá normofrakcionační režim 1,8 – 2,0 Gy denně, 5x týdně do celkové dávky 44 – 50,4 Gy v délce trvání 5-6 týdnů. V některých Evropských zemích je tradičně využíván i tzv. krátký kurz radioterapie. Nejčastěji se aplikuje celkem 5 frakcí po 5 Gy v průběhu 5 dnů do celkové dávky 25 Gy. Léčba probíhá obvykle bez potenciace chemoterapií. Operační řešení je

následně indikováno s odstupem 3 až 7 dnů, dokud se ještě výrazně nerozvinou akutní nežádoucí účinky radioterapie. Cílem zkráceného režimu není dosažení downstagingu, proto se užívá u nemocných s resekabilním onemocněním. Není vhodný pro hraničně operabilní nemocné. Švédská klinická studie hodnotila 1168 pacientů s operabilním karcinomem rekta I-III. klinického stádia. Pacienti byli léčeni samostatnou chirurgickou léčbou nebo zkráceným režimem radioterapie. TME nebyla v této studii standardem. Předoperační radioterapie prokázala vyšší procento celkového přežití a nižší výskyt lokálních recidiv při mediánu sledování 13 let [40]. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 6.

Tab. č. 6. Výsledky klinické studie Swedish Rectal cancer Trial [40].

Stádium	Celkové přežití (%)		Lokální recidiva (%)	
	RT	Bez RT	RT	Bez RT
I	54	45	<b>4.5</b> p = 0,02	14
II	38	30	<b>6</b> p = 0,002	22
III	18	16	<b>23</b> p < 0,001	46
Všechna stadia	<b>38</b> p = 0,08	30	<b>9</b> p < 0,001	26

(tlustě zvýrazněné hodnoty jsou statisticky významné)



Nemocní léčení radioterapií prokázali ve výše zmíněné klinické studii výraznější vzestup počtu recidiv po 12 letech od chirurgického výkonu. Na podkladě uvedené klinické studie mohou mít benefit ze zkráceného režimu radioterapie hlavně starší nemocní s kratší předpokládanou dobou života, kde radioterapie může snížit riziko časně rekurence onemocnění. Další výhodou je kratší doba léčby než v případě normofrakcionované radioterapie, nižší akutní toxicita léčby a lepší compliance pacientů. Nizozemská klinická studie hodnotila 1861 pacientů, kteří byli léčeni samostatnou chirurgickou léčbou nebo krátkým režimem předoperační radioterapie. Standardem bylo provedení TME. Pacienti léčení radioterapií prokázali 5letý významně nižší výskyt lokální recidivy ve stadiu II a III. Klinické stadium I bylo bez léčebných rozdílů ve smyslu výskytu lokální recidivy. Celkové přežití nebylo předoperační radioterapií ovlivněno [41]. Na podkladě obou klinických studií je vidět význam TME. V klinické studii švédských autorů byl celkový výskyt lokálních recidiv ve skupině bez radioterapie 26%, kdežto v nizozemské klinické studii byl celkový počet lokálních recidiv 11 % při standardním provedení TME. Druhá klinická studie neprokázala efekt radioterapie v I. klinickém stadiu na četnost výskytu lokální recidivy (0,7 % bez radioterapie versus 0,5 % s radioterapií) při provedení TME. Polská klinická studie hodnotila zkrácený režim radioterapie s normofrakcionovanou radioterapií potencovanou 5-FU u 316 pacientů ve II. a III. klinickém stadiu v rámci předoperační léčby karcinomu rekta. Zkrácený režim prokázal méně častý výskyt akutní toxicity stupně III a IV (3 % versus 18 %), lepší compliance pacientů (97,9 % versus 69,2 %). Pooperační morbidita byla podobná v obou skupinách pacientů (28,3 % versus 27 %). Chronická toxicita stupně III a IV byla nevýznamně častější u pacientů léčených zkráceným režimem radioterapie (10,1 % versus 7,1 %). Normofrakcionovaná radiochemoterapie prokázala významně vyšší výskyt kompletní patologické remise (16,4 % versus 0,7 %) a nižší pozitivní CRM (4,4 % versus 12,9 %). Celkové přežití nebo přežití bez známek nemoci bylo při mediánu sledování 48 měsíců podobné v obou ramenech. Primární cíl studie ve smyslu zachování svěrače nebyl splněn [42]. Všechny 3 zmíněné klinické studie prokázaly podobné procento výskytu vzdálené diseminace onemocnění (25 – 35 %, tab. č. 7).

Tab. č. 7. Přehled klinických studií hodnotících zkrácený režim radioterapie.

Studie	Folkesson et al [40]	Kapiteijn et al [41]	Bujko et al [42]
Léčebné ramena	Chirurgie RT + Chirurgie	Chirurgie RT + chirurgie	Krátký kurz RT + chirurgie Dlouhý kurz RT + chirurgie
Primární cíle	OS, LR výskyt metastáz	OS, LR	Zachování svěračů
Počet pacientů	1168	1861	316
Celkové přežití (%)	<b>30 versus 38</b> ve 13 letech	49 versus 48 v 10 letech	67,2 versus 66,2 ve 4 letech
Lokální recidiva (%)	<b>26 versus 9</b> ve 13 letech	<b>11 versus 5</b> v 10 letech	10,6 versus 15,6 ve 4 letech
Výskyt vzálených metastáz (%)	34 v obou skupinách	28 versus 25	31,4 versus 24,6
Patologická kompletní remise(%)	nehodnoceno	nehodnoceno	<b>0,7 versus 16,4</b>
Akutní toxicita stupně III a IV (%)	nehodnoceno	nehodnoceno	<b>3,2 versus 18,2</b>
Chronická toxicita stupně III a IV (%)	nehodnoceno	nehodnoceno	10,1 versus 7,1
Zachování svěrače (%)	nehodnoceno	66 versus 69	61,2 versus 58

(tlustě zvýrazněné hodnoty jsou statisticky významné)

## 1.6. Toxicita léčby

Nejčastějším nežádoucím projevem radioterapie karcinomu rekta jsou gastrointestinální projevy. Mezi akutní nežádoucí gastrointestinální projevy řadíme průjem, imperativní nutkání na stoli, akutní proktitidu, akutní enteritidu, krvácení z konečníku, bolesti břicha, obstrukci, malabsorpci [3]. Chronická toxicita se projevuje s odstupem 3 a více měsíců, eventuálně i za několik let po ukončení předoperační radiochemoterapie. Nejčastěji se setkáváme s chronickou proktitidou a enteritidou, nekrózou sliznic, perforaci, vzniku fistul, anální a rektální dysfunkcí (inkontinence, potíže s vyprázdněním konečníku apod.) [43, 44]. Po gastrointestinální toxicitě je nevýznamnějším vedlejším nežádoucím účinkem hematologická toxicita, zvláště při kombinaci radioterapie s chemoterapií. Nejčastěji se vyskytuje anémie. Mezi časně genitourinální projevy toxicity řadíme inkontinenci moče, dysurii, častější frekvenci močení. Nejčastější příčinou je postradiační cystitida. Pozdním následkem poškození močového měchýře je postradiační fibróza, která může nemocného zcela invalidizovat. Radioterapie může způsobovat také sexuální dysfunkce. U mužů se jedná o erektilní dysfunkce, potíže s ejakulací a azoospermie. U žen radioterapie může způsobit suchost vaginální sliznice a snižovat kvalitu sexuálního života [45]. Nelze zapomínat ani na možnost radiační kastrace u žen ve fertilním věku. Mezi další projevy pozdní toxicity lze řadit neuralgie a neuropatie při postižení lumbálního a sakrálního nervového plexu, lymfedémy dolních končetin, atrofie kůže, postupná paraparéza dolních končetin. Z hlediska dlouhodobého nutno zvážit i riziko vzniku sekundárních malignit v orgánech zasažených předchozí radioterapií [46]. Přehled nežádoucích účinků stupně III a IV na podkladě klinické studie CAO/ARO/AIO-94 je uveden v tabulce č. 8 [12]. Předoperační radioterapie prokázala příznivější profil toxicity než léčba pooperační [12]. Předoperační radiochemoterapie prokázala vyšší výskyt toxicity než samostatná předoperační radioterapie [20, 23, 25, 26]. Předoperační normofrakcionovaná radiochemoterapie prokázala vyšší procento akutní toxicity než krátký kurz radioterapie. Pozdní nežádoucí účinky byly bez statisticky významného rozdílu jak prokázala klinická studie polských autorů [42].

Tab. č. 8. Porovnání toxicity předoperační a pooperační radiochemoterapie podle klinické studie CAO/ARO/AIO-94 [12].

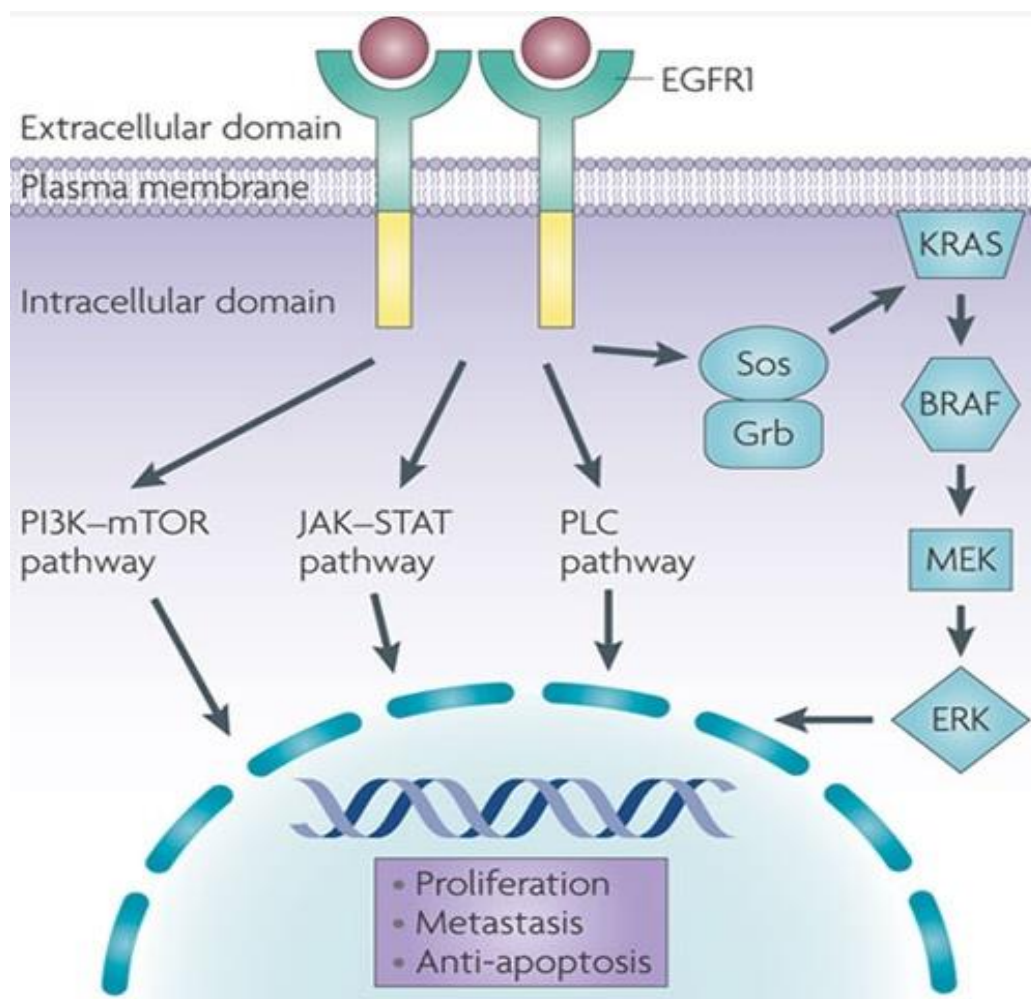
	Předoperační chemoradioterapie (%)	Pooperační chemoradioterapie (%)	p hodnota
Časné projevy toxicity			
- Průjem	<b>12</b>	<b>18</b>	0,04
- Hematologické toxicita	6	8	0,27
- Kožní toxicita	11	15	0,09
- Celkově	<b>27</b>	<b>40</b>	0,001
Pozdní projevy toxicity			
- Chronický průjem, obstrukce	9	15	0,07
- Striktura anastomózy	<b>4</b>	<b>12</b>	0,003
- Postižení močového měchýře	2	4	0,21
- Celkově	<b>14</b>	<b>24</b>	0,01

(tlustě zvýrazněné hodnoty jsou statisticky významné)

## 1.7. Receptor pro růstový epidermální faktor

Receptor pro epidermální růstový faktor (EGFR, HER1, erbB-1) je 170 kDa vážící transmembránový glykoprotein [47]. Je složen z 1186 aminokyselin. Jeho produkce je kódovaná genem EGFR1, který je uložen na krátkém ramínku 7 chromozómu (7p12). EGFR patří do rodiny erb-B tyrozinkinázových receptorů, kam dále řadíme také HER2 (erbB-2), HER3 (erbB-3) a HER4 (erbB-4). EGFR má extracelulární doménu sloužící pro vazbu ligandu, transmembránovou lipofilní doménu a intracytoplasmatickou doménu, která vykazuje tyrozinkinázovou aktivitu [48]. Mezi ligandy EGFR patří epidermální růstový faktor (EGF), amfíregulin, epiregulin, neuregulin, transformující růstový faktor alfa (TGF $\alpha$ ), betacellulin, heparin-binding EGF (HB-EGF) [49]. EGFR může být také aktivován ionizujícím zářením. Po navázání ligandů dochází k homodimerizaci dvou extracelulárních domén EGFR nebo heterodimerizaci EGFR domény s jiným z členů erbB rodiny. Po internalizaci dimérů dochází autofosforylaci intracelulární tyrozinkinázové domény. Ta aktivuje cytoplasmatické transdukční proteinové kaskády, které indukují buněčnou proliferaci, akceleraci buněčné repopulace, inhibici apoptózy [50]. Mezi nejdůležitější signální dráhy patří Ras/Raf/MAPK, PI3K/AKT, JAK/STAT nebo PLC/PKC (obr. č. 4). Signální dráha Ras/Raf/MAPK po aktivaci indukuje proliferaci buněk a stimuluje angiogenezi. Signální dráha PI3K/AKT po aktivaci působí antiapopticky [50, 51]. EGFR může být také přímo translokován do buněčného jádra, kde přímo způsobuje aktivaci transkripčních faktorů [52 - 55]. EGFR hraje důležitou roli při zachování normální funkce a reparace zdravých epidermálních tkání. Mezi nejvýznamnější mechanismus zvýšení aktivity EGFR u nádorových buněk je overexprese receptoru EGFR. Další možností je nadměrná aktivace přirozeným ligandem při jeho zvýšené produkci, přítomnost aktivační mutace EGFR, ztráta negativních intracelulárních regulačních mechanismů nebo genová amplifikace EGFR1. Zvýšená aktivita EGFR je popsána u mnoha zhoubných nádorů. Aktivace EGFR na povrchu nádorových buněk je spojená s progresí buněčného cyklu, buněčné repopulace, zvýšení angiogeneze, inhibice apoptózy. Je také asociovaná s agresivnějším chováním nádorových buněk a horší odpovědí na radioterapii nebo chemoterapii [56, 57]. Zvýšená exprese EGFR také zvyšuje motilitu nádorových buněk [58].

Obr. č. 4. EGFR a signální dráhy podle Walthera et al [55].



### 1.7.1. EGFR a radioterapie

Reparace, redistribuce, repopulace a reoxygenace patří mezi základní mechanismy určující interakci mezi ionizujícím zářením a tkáněma (tkzv. 4R) [59]. EGFR hraje důležitou úlohu ve všech 4 mechanismech hrajících zásadní úlohu v reakci tkáně na ozáření. EGFR má důležitou funkci při reparaci buněčného poškození indukovaného ozářením. EGFR může být také přímo translokován do buněčného jádra, kde přímo způsobuje aktivaci transkripčních faktorů s konečným důsledkem reparace buněk [52 - 54]. Podobně po aktivaci EGFR ionizujícím zářením dochází k aktivaci signální dráhy Ras/Raf/MAPK s aktivací transkripce DNA reparačních genů (Rad51, ATM, XRCC1) [60, 61]. EGFR má vliv také na redistribuci buněk po ozáření. Bylo zjištěno, že EGFR inhibitory způsobují redistribuci buněčného cyklu bloádou v G1 fázi. Navíc může být buněčný cyklus prodloužen i radiací indukovaným blokem v G2 fázi buněčného cyklu [62]. Radiobiologické studie potvrzují EGFR kritickou úlohu cytoprotektivních a pro-proliferativních reakcí nádorových buněk po ozáření. Přesný mechanismus není zcela znám. Bylo zjištěno, že po aplikaci dávek v rozmezí 1 až 5 Gy dochází k okamžité aktivaci EGFR u populace nádorových buněk. Při opakované aplikaci dávkou 2 Gy dochází k overexpresi EGFR, která má za následek dávkově závislé zvýšení proliferací odpovědi nádoru [63]. Na podkladě daných skutečností lze předpokládat, že indukované zvýšení exprese EGFR po radioterapii souvisí s akcelеровanou repopulací nádorových buněk [64, 65]. Zvýšení nádorové repopulace v průběhu radioterapie vede k obnově klonogenních nádorových buněk, čímž působí kontraproduktivně vůči samotné léčbě zářením [66 – 68]. Repopulace klonogenních buněk je tedy jev nežádoucí v léčbě zhoubných nádorů ionizujícím zářením. Byl také zkoumán vztah EGFR a angiogeneze. V experimentu byla prokázána inhibice angiogeneze po inkubaci nádorové tkáně s monoklonální protilátkou IMC-C225 proti EGFR. Byla prokázána snížená exprese vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (VEGF) [69]. Antiangiogeneze navozena inhibicí EGFR ale může snížit oxygenaci nádorové tkáně, což může mít vliv na výsledný efekt radioterapie. Na druhé straně chronicky hypoxické buňky se zvýšenou expresí EGFR mohou být více citlivé k inhibitorům EGFR, což může vést k nižšímu zastoupení hypoxických buněk v tumorové tkáni [70].

### 1.7.2. Prognostický vliv exprese EGFR u pacientů s adenokarcinomem rekta

U kolorektálního karcinomu je zvýšená exprese EGFR popsána v 60 – 80 % a je spojena s horší prognózou onemocnění [71 - 73]. Azria ve své práci hodnotil u 77 pacientů léčených předoperační radioterapií vliv exprese EGFR v biopsii na léčebné výsledky. Dávka předoperační radioterapie činila 44 Gy / 22 frakcí / 5 x týdně, z toho u 25 pacientů s adenokarcinomem v dolní části rekta byl doplněn boost LD 16 Gy s cílem svěrač zachovávající operace. Pozitivita EGFR byla popsána u 56 % pacientů. Při mediánu follow-up 36 měsíců byl zjištěn významný vyšší počet lokálních recidiv u pacientů se zvýšenou expresí EGFR nad 25% v multivariační analýze (HR 7,18;  $p = 0,037$ ) [74]. Jiná klinická práce hodnotila 92 pacientů léčených předoperační radiochemoterapií pro lokálně pokročilý karcinom rekta. Pozitivita EGFR byla zjištěna u 71 % pacientů. Pacienti s vyšší expresí EGFR prokázali významně kratší dobu celkového přežití ( $p = 0,013$ ), přežití bez známek recidivy ( $p = 0,002$ ) a přežití bez vzniku vzdálených metastáz ( $p = 0,003$ ) než pacienti se žádnou nebo nižší expresí EGFR [75]. Giralt prezentoval hodnocení 87 pacientů léčených pro lokálně pokročilý adenokarcinom rekta, z toho 50 bylo potencionováno chemoterapií. Dávka předoperační radioterapie činila 45 Gy / 28 frakcí / 5x týdně, z toho u 8 pacientů byl doplněn boost LD 8 Gy na primární tumor. Za pozitivitu EGFR byla považována exprese EGFR 5 % a více. EGFR pozitivní adenokarcinom byl přítomen v 52 případech z 87 hodnocených, což představuje 60 %. Pozitivní exprese EGFR nekorelovala s klinickým T ani N stadiem. U pacientů s pozitivitou EGFR bylo významně méně patologických kompletních remisí ( $p = 0,006$ ). Při pozitivitě EGFR byla statisticky významně kratší doba přežití bez známek onemocnění ( $p = 0,003$ ). V multivariační analýze byla exprese EGFR v předléčebné endobiopsii statisticky významným prediktorem doby přežití bez známek onemocnění [76]. U adenokarcinomu rekta byla zvýšená exprese EGFR spojená s horší prognózou nezávislou na stavu lymfatických uzlin [76, 77]. Další klinické studie prokázaly u pacientů s vyšší expresí EGFR léčených předoperační radiochemoterapií pro adenokarcinom rekta nižší výskyt patologické kompletní remise a kratší přežití bez známek recidivy [78 – 81]. Na druhé straně další retrospektivní práce neprokázala prognostický vliv exprese EGFR a KRAS mutace u 146 pacientů léčených předoperační radiochemoterapií pro karcinom rekta na celkové přežití a přežití bez známek recidivy. V této práci bylo stanovena amplifikace genu pro EGFR pomocí FISH [82]. Další práce také neprokázala korelaci mezi stupněm exprese EGFR a výsledky léčby [83]. Hradecká retrospektivní studie hodnotila dynamiku změny exprese EGFR u 53 pacientů léčených předoperační radiochemoterapií pro lokálně pokročilý



adenokarcinom rekta. Dávka radioterapie činila 45 Gy / 25 frakcích / 5x týdně. Byl aplikován boost 5,4 Gy. Potenciace byla provedena aplikací 5-fluorouracilu v dávce 200 mg/m<sup>2</sup> v kontinuální infuzí. Expresa EGFR byla hodnocena v endobiopsii před léčbou a v resekátu po předoperační radiochemoterapii. Pacienti, u kterých došlo v průběhu radiochemoterapie ke zvýšení exprese EGFR, měli statisticky významně kratší dobu přežití bez známek onemocnění ( $p=0,003$ ) a celkovou dobu přežití ( $p=0,005$ ) než pacienti, u kterých nedošlo k žádné změně exprese nebo u nichž se exprese EGFR snížila [84].

### 1.7.3. Možnosti inhibice receptoru pro epidermální růstový faktor

Na podkladě výše zmíněných skutečností je vhodné nalézt možnost inhibice funkce EGFR v průběhu onkologické léčby. EGFR se stal oblíbeným terčem různých inhibitorů [85, 86]. První skupinu představuje možnost inhibice EGFR pomocí syntetických inhibitorů cytoplazmatické tyrozinkinázové aktivity EGFR označených jako tyrozinkinázový inhibitor (TKI). Jedná se o malé molekuly schopné prostupu cytoplazmatickou membránou. Největšího uplatnění dosáhly perorální TKI gefitinib (Iressa®), erlotinib (Tarceva®) a lapatinib (Tyverb®). V současné době mají význam, hlavně v paliativní léčbě nemalobuněčného plicního karcinomu nebo karcinomu prsu [87, 88]. V léčbě metastatického kolorektálního karcinomu se zatím neuplatňují. Gefitinib v randomizované studii II. klinické fáze v monoterapii neprokázal v léčbě metastatického kolorektálního karcinomu účinnost [89]. Erlotinib ve studiích I. a II. klinické fáze v monoterapii i v kombinaci s chemoterapií neprokázal větší účinnost v léčbě generalizovaného adenokarcinomu kolorekta [90 - 92]. Proběhla preklinická studie, která prokázala aditivní efekt při kombinaci gefitinibu, radioterapie a chemoterapie [93]. Další klinická studie hodnotila 41 pacientů s adenokarcinomem rekta T3/T4 nebo s postižením lymfatických uzlin. Pacienti byli léčeni radioterapií potencovanou podáním 5-FU a gefitinibu. Byl pozorován 30 % výskyt pCR. Léčba byla výrazně toxická. Gastrointestinální toxicita III. stupně byla popsána až ve 26 %. Až 61 % pacientů vyžadovalo redukci gefitinibu [94]. Mnohem většího významu v léčbě kolorektálního karcinomu představují monoklonální protilátky namířené proti extracelulární receptorové doméně. Největšího uplatnění dosáhl cetuximab a panitumumab. Cetuximab (Erbix®) je chimérická monoklonální protilátka proti EGFR. V pilotní studii prokázalo přidání cetuximabu k irinotekanu efektivitu ve srovnání s cetuximabem samotným v léčbě vyšších linií metastatického kolorektálního karcinomu [95]. S rozvojem molekulární biologie bylo zjištěno, že zásadním prediktivním faktorem pro použití anti-EGFR léčby u metastatického kolorektálního karcinomu je stav onkogenu K-RAS [96]. K- RAS patří do

rodiny genů RAS, kam dále řadíme i N-RAS a H-RAS. Onkogeny RAS kódují regulační proteiny, které významně ovlivňují signální dráhu spouštěnou aktivací EGFR. H-RAS nemá u kolorektálního karcinomu význam. Onkogeny RAS se vyskytují v nádorech buď v normální nemutované formě (wild type), nebo v přítomnosti aktivační mutace. Tady je regulační protein RAS trvale aktivován bez ohledu na inhibici EGFR. Mutace genu K-RAS se vyskytují ve 30 – 50 % kolorektálního karcinomů. Cetuximab je ideálně podávat v kombinaci s cytostatickými režimy založenými na irinotekanu, kde u pacientů s nemutovaným K-RAS došlo při kombinaci cetuximabu a režimu FOLFIRI k významnému prodloužení PFS i OS [97]. Méně klinických dat je ohledně kombinace cetuximabu a režimy založenými na oxaliplatině [98 – 100]. Panitumumab (Vectibix®) je rekombinantní plně humánní protilátka proti EGFR. V pilotní studii prokázal vyšší účinnost v porovnání s placebem u předléčených pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem [101]. Panitumumab byl v první linii metastatického kolorektálního karcinomu testován v kombinaci s režimem FOLFOX. K signifikantnímu prodloužení celkového přežití došlo u pacientů s nemutovanou formou genu K-RAS. Největšího úspěchu ale prokázala skupina pacientů s nemutovaným typem RAS, kde byl rozdíl téměř 6 měsíců v celkovém přežití ve srovnání se samotnou chemoterapií [102]. Mutace N-RAS se vyskytuje asi v 5 %. Stav genu RAS má nyní prediktivní význam pro léčbu monoklonálními protilátkami proti EGFR v léčbě metastatického kolorektálního karcinomu. Prognostický význam mutace genu K-RAS není jednoznačný [103, 104].

#### **1.7.4. Předoperační radiochemoterapie a inhibitory EGFR**

Monoklonální protilátky proti EGFR cetuximab a panitumumab prokázaly účinnost v léčbě metastatického karcinomu tlustého střeva a konečníku. V současné době probíhají klinické studie převážně II. fáze, které hodnotí kombinaci cetuximabu a panitumumabu s předoperační radiochemoterapií lokálně pokročilého adenokarcinomu rekta. Více dat je v hodnocení cetuximabu. Jako cytostatika se v klinických studiích používal 5-FU, kapecitabin, oxaliplatin nebo irinotekan. Dávka radioterapie byla v rozmezí 45 – 50,4 Gy. Jako hlavní cíl bylo hodnocení patologické kompletní remise jako prediktoru delšího DFS a OS [105 – 108]. V rámci hodnocení 11 klinických studií bylo celkové průměrné procento pCR jenom 10,7 % (0 – 25 %) [109 – 119]. Pro porovnání bylo procento pCR u samostatné radiochemoterapie v metanalýze klinických studií II. a III. fáze u 3157 pacientů 13,5 % [120]. Výskyt toxicity stupně III a IV byl ve výše zmíněných 11 studiích popsán do 30 %. Nejčastější byl výskyt průjmů, méně často se vyskytovala leukopenie a anémie, elevace jaterních enzymů.

Akneiformní exantém jako typicky nežádoucí účinek cetuximabu se vyskytoval v některých studiích až v 87 % případů. Většinou se jednalo o stupeň I nebo II. Po aplikaci cetuximabu byla popsána i hypersenzitivní reakce do 5 – 10 %. Autoři výše zmíněných studií většinou léčbu hodnotili jako dobře zvládatelnou. Přehled uvedených studií je v tabulce č. 9.

Tab. č. 9. Cetuximab v předoperační léčbě adenokarcinomu rekta

Studie	N	Cetuximab	Kapecitabin	5-FU	Oxaliplatina	Irinotekan	pCR(%)
Chung [109]	20	+	-	+	-	-	12
Machiels [110]	40	+	+	-	-	-	5
Rodel [111]	48	+	+	-	+	-	8
Hoffheinz [112]	20	+	+	-	-	+	25
Horisberger [113]	50	+	+	-	-	+	8
Bertolini [114]	40	+	-	+	-	-	7.5
Hong [115]	10	+	+	-	-	+	20
Cabebe [116]	23	+	+	-	prvých 10 pacientů	-	17
Eisterer [117]	28	+	+	-	-	-	0
Velenik [118]	37	+	+	-	-	-	8,1
Kim [119]	40	+	+	-	-	+	23

Panitumumab byl v předoperační léčbě adenokarcinomu rekta hodnocen v klinické studii II. fáze. Celkem bylo hodnoceno 60 pacientů. Procento pCR bylo 21 % [121]. Nicméně další klinické studie jsou nutné k dalšímu zhodnocení panitumumabu v předoperační léčbě adenokarcinomu rekta. Na základě uvedených výsledků nebude zatím pravděpodobně možné výsledky léčby kombinace cetuximabu a chemoterapie v léčbě generalizovaného metastatického kolorektálního karcinomu nebo výsledky kombinace cetuximabu a radioterapie lokálně pokročilých karcinomů hlavy a krku převést do léčebných standardů lokálně pokročilého adenokarcinomu rekta [95 – 102, 122]. Podobně jako v léčbě metastatického kolorektálního karcinomu, i v předoperační léčbě adenokarcinomu rekta byl hodnocen prediktivní význam mutace genu K-RAS. Již výše zmíněna klinická studie s panitumumabem neprokázala korelaci mezi klinickou odpovědí a stavem mutace K-RAS [121]. Podobné výsledky dosáhly i další klinické studie II. fáze s cetuximabem [115, 123]. Jiná klinická práce prokázala vyšší výskyt pCR u pacientů s nemutovanou formou K-RAS ve srovnání s mutovanou formou (37 % versus 11 %). Hodnoceno bylo 39 pacientů. U 9 pacientů byla prokázána mutace K-RAS, u pacientů 30 nebyla [124]. Význam mutace K-RAS genu zatím není zcela znám v předoperační léčbě adenokarcinomu rekta. K definitivnímu zhodnocení významu mutace K-RAS, případně RAS a odpovědi na předoperační léčbu bude potřeba zhodnocení větších souborů pacientů. Zajímavou skutečností je nižší výskyt mutované formy K-RAS (12 – 30 %) v pracích zkoumajících význam anti-EGFR léčby u lokálně pokročilého karcinomu rekta ve srovnání s četností v klinických studiích metastatického kolorektálního karcinomu [125, 126]. Výše uvedené léčebné výsledky kombinace předoperační radiochemoterapie a inhibitorů EGFR zatím nejsou uspokojivé [109 - 119]. Hledají se proto další možnosti jak lépe individualizovat pacienty k léčbě inhibitory EGFR. K identifikaci pacientů vhodných k potenciaci cetuximabem by mohlo pomoci studium dynamiky EGFR během předoperační radiochemoterapie [84]. Tato problematika je i cílem předkládané disertační práce. Je vhodné identifikovat skupinu pacientů se zvýšením exprese EGFR během předoperační radiochemoterapie. Tato skupina pacientů by mohla mít benefit z další terapie inhibitory EGFR po chirurgickém výkonu. Prospektivní studie by v budoucnu mohly využít nejen imunohistochemii ex vivo, ale i imunohistochemii in vivo s využitím PET EGFR, která by mohla hodnotit dynamiku exprese EGFR nejen před radiochemoterapií a po ní, ale i v průběhu radiochemoterapie s časným zařazením antiEGFR terapie [127].

## 2. Cíle práce

Předkládaná disertační práce je retrospektivní studií 50 pacientů léčených předoperační radiochemoterapií na Onkologickém oddělení Krajské nemocnice Liberec, a.s. v letech 2005 až 2009.

Primárním cílem disertační práce bylo retrospektivní zhodnocení prognostického vlivu změny exprese receptoru pro epidermální růstový faktor porovnáním exprese EGFR v endobiopsii před zahájením léčby a exprese EGFR v chirurgickém resekátu po předoperační radiochemoterapii.

Dalším cílem bylo zhodnocení vlivu dalších parametrů na léčebné výsledky. Mezi hodnocené parametry byly řazeny: pohlaví, vstupní klinické stadium, lokalizace nádoru, histologický grade, patologické klinické stadium, dosažení léčebné odpovědi, vstupní koncentrace hemoglobinu, CEA, typ operace, exprese EGFR v endobiopsii a exprese EGFR v resekátu.

### 3. Soubor pacientů a použítá metodika

#### 3.1. Soubor pacientů

Od ledna 2005 do prosince 2009 bylo v rámci Onkologického oddělení Nemocnice Liberec léčeno celkem 59 pacientů předoperační radioterapií pro adenokarcinomu rekta s potenciací kapecitabinem. V rámci disertační práce bylo retrospektivně hodnoceno 50 pacientů: 34 mužů a 16 žen. Průměrný věk byl 61,4 roku (rozmezí 40-78 let), medián věku 63,5 roku (tab. č. 10 a 11). Devět pacientů nebylo hodnoceno pro nekompletní klinické a patologické údaje.

Tab. č. 10. Charakteristika souboru podle pohlaví

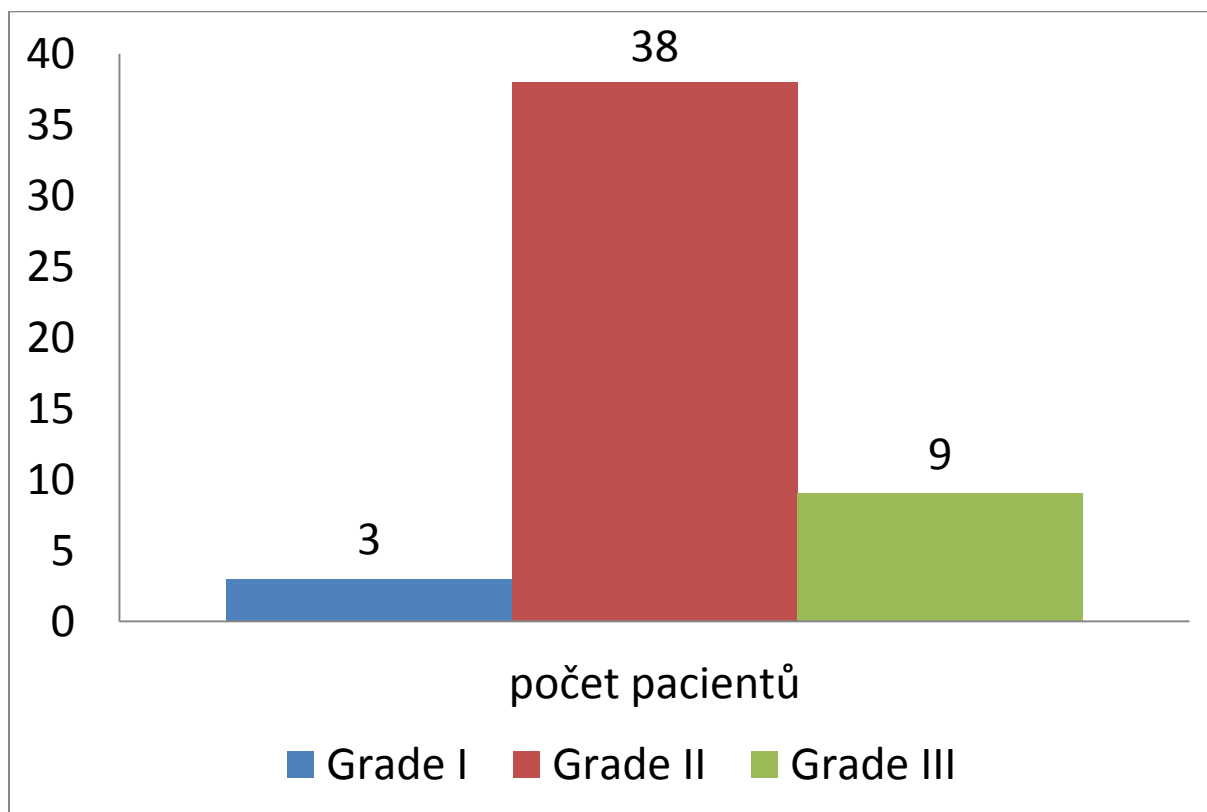
	Muži	Ženy
Počet pacientů	34	16

Tab. č. 11. Charakteristika souboru podle věku

Průměrný věk	Medián věku	Věkové rozmezí
61,4	63,5	40 - 78

Histologicky se jednalo o tubulární adenokarcinom u všech 50 pacientů. U 3 pacientů byla popsána mucinózní složka. Histologicky nádor byl dobře diferencovaný u 3 pacientů, středně diferencovaný u 38 pacientů a málo diferencovaný u 9 pacientů (obr. č. 5).

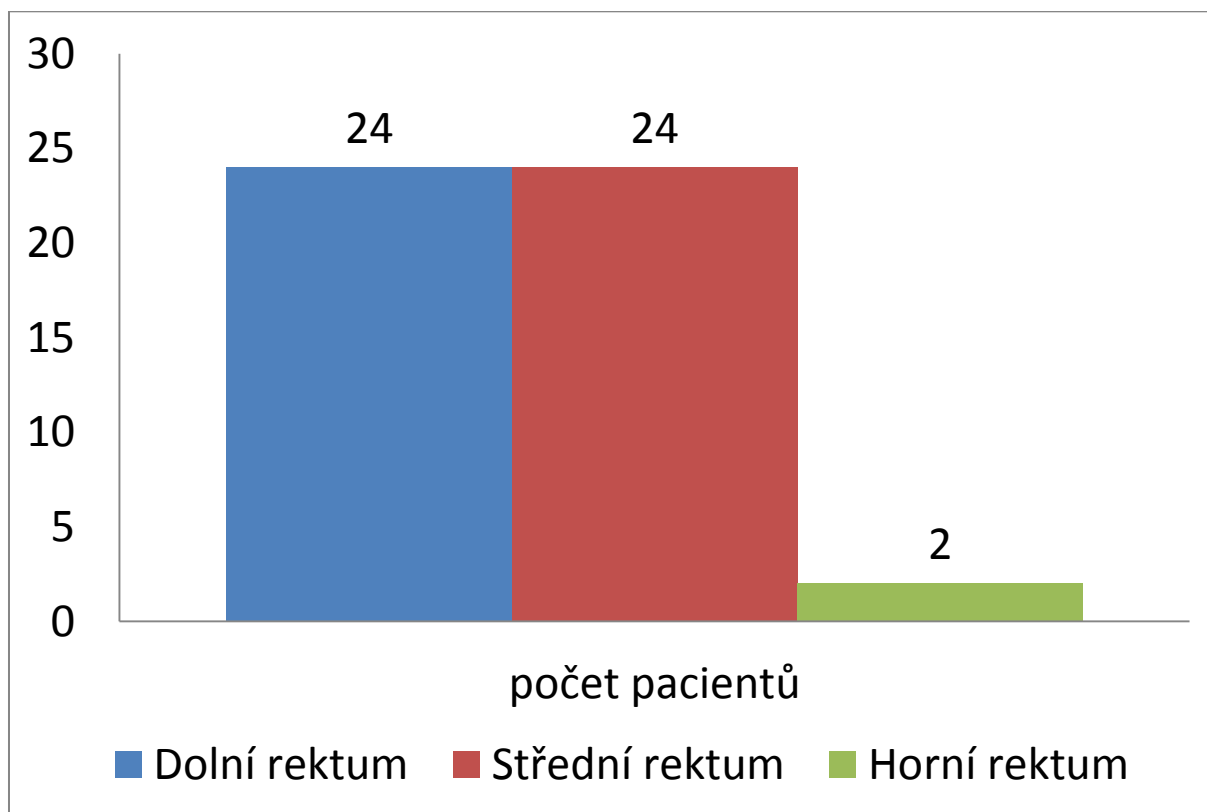
Obr. č. 5. Histologický grading adenokarcinomů





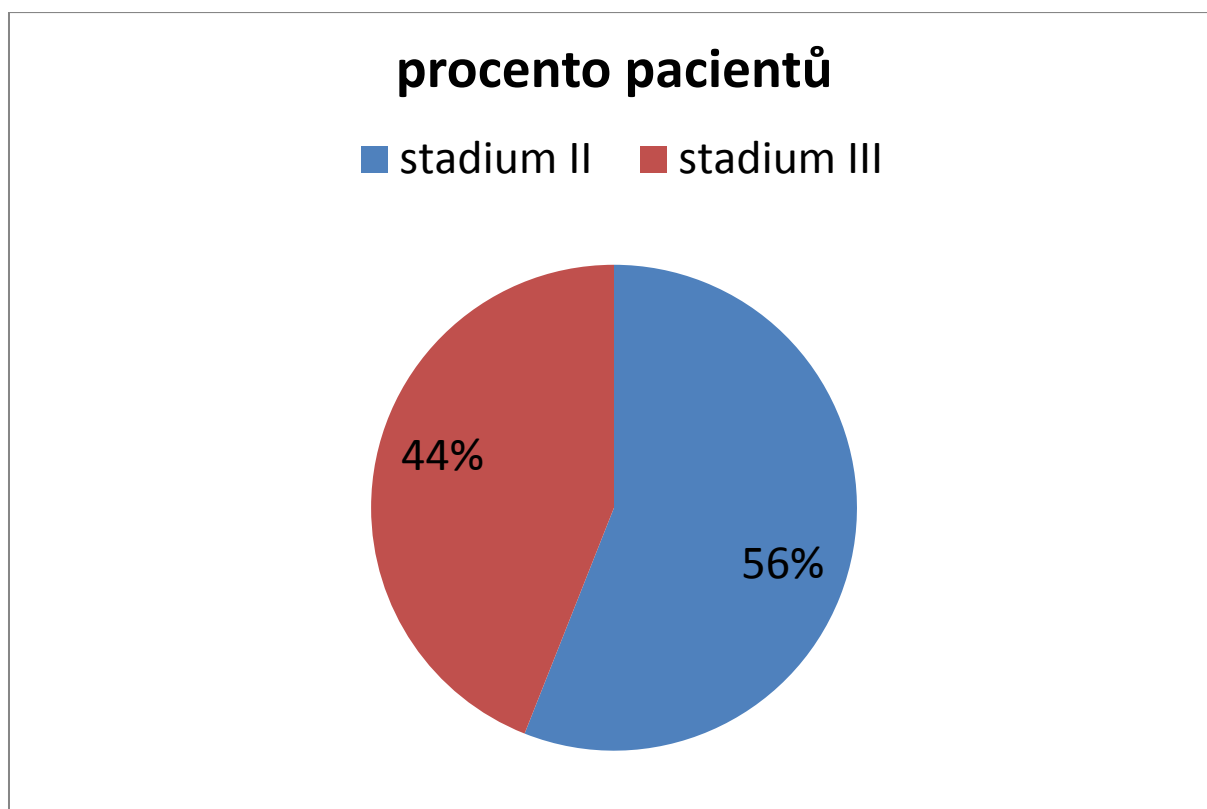
Podle anatomické sublokalizace nádoru mělo 24 pacientů distální okraj tumoru uložen do 5 cm, stejný počet pacientů mezi 5,1 a 10 cm. Distální okraj tumoru nad 10 cm byl popsán u 2 pacientů (obr. č. 6).

Obr. č. 6. Anatomická sublokalizace distálního okraje tumoru



Před zahájením předoperační radiochemoterapie bylo 28 pacientů (56 %) ve II. klinickém stadiu a 22 pacientů (44 %) ve III. klinickém stadiu dle TNM klasifikace (obr. č. 7) [2].

Obr. č. 7. Charakteristika souboru – klinická stádia [2]



Medián vstupní koncentrace hemoglobinu byl 142,5 (79 – 166) g/l , medián vstupní koncentrace leukocytů byl 8,1 (3,5 – 13,5)  $10^9/l$ , medián vstupní koncentrace trombocytů 260 (146 – 440)  $10^9/l$ . Předoperační koncentrace CEA byla stanovena u 29 pacientů (58 % všech hodnocených pacientů). Medián předoperační koncentrace CEA byl 3,2 (0,5 – 377)  $\mu g/l$  (tab. č. 12). Jedenáct pacientů mělo předoperačně prokázanou elevaci CEA (37,9 % všech vyšetřených pacientů).

Tab. č. 12. Laboratorní ukazovatele v hodnoceném souboru.

Ukazovatel	CEA ( $\mu g/l$ )	Hemoglobin (g/l)	Leukocyty ( $10^9/l$ )	Trombocyty ( $10^9/l$ )
Počet hodnocených pacientů	29	50	50	50
Medián	3,2	142,5	8,1	260

## 3.2. Radioterapie

Je indikovaná pro adenokarcinom rekta a rektosigmatu s proximální hranicí ve vzdálenosti lokalizované kolonoskopicky do 20 – 25 cm od anu. Jedná se o lokalizaci karcinomů, které jsou lokalizovány v mesorektu a jejichž regionální lymfatika jsou v oblasti pánve, a je tedy možné ozářit je v jednom cílovém objemu [10].

### 3.2.1. Cílový objem

Pacienti byli plánováni k ozáření na jeden cílový objem (obr. č. 8 – 10).

**GTV:** primární tumor (GTV T) + postižené lymfatické uzliny (GTV N).

**CTV:** GTV + regionální lymfatické uzliny (perirektální, presakrální, vnitřní ilické), celé mesorektum.

Volitelné podle rozsahu a lokalizace tumoru:

- a) fossa ischiorektalis a oblast vnitřního a vnějšího análního svěrače: u tumorů lokalizovaných do 6 cm od anu nebo pokud tumor invaduje do análních svěračů,
- b) obturatorní uzliny: tumor lokalizován do vzdálenosti 10 cm od anu, v případě postižení uzlin v mesorektu nebo vnitřních ilických uzlin, a nebo, když je přítomná invaze tumoru do jiných pánevních orgánů,
- c) zevní ilické uzliny: v případě invaze tumoru do pánevních orgánů, v případě postižení laterálních pánevních uzlin (uzliny podíl a. iliaca int., a.pudenda int., a. obturatoria, a. iliaca ext.),
- d) inguinální uzliny: v případě postižení dolní třetiny pochvy nebo análního svěrače.

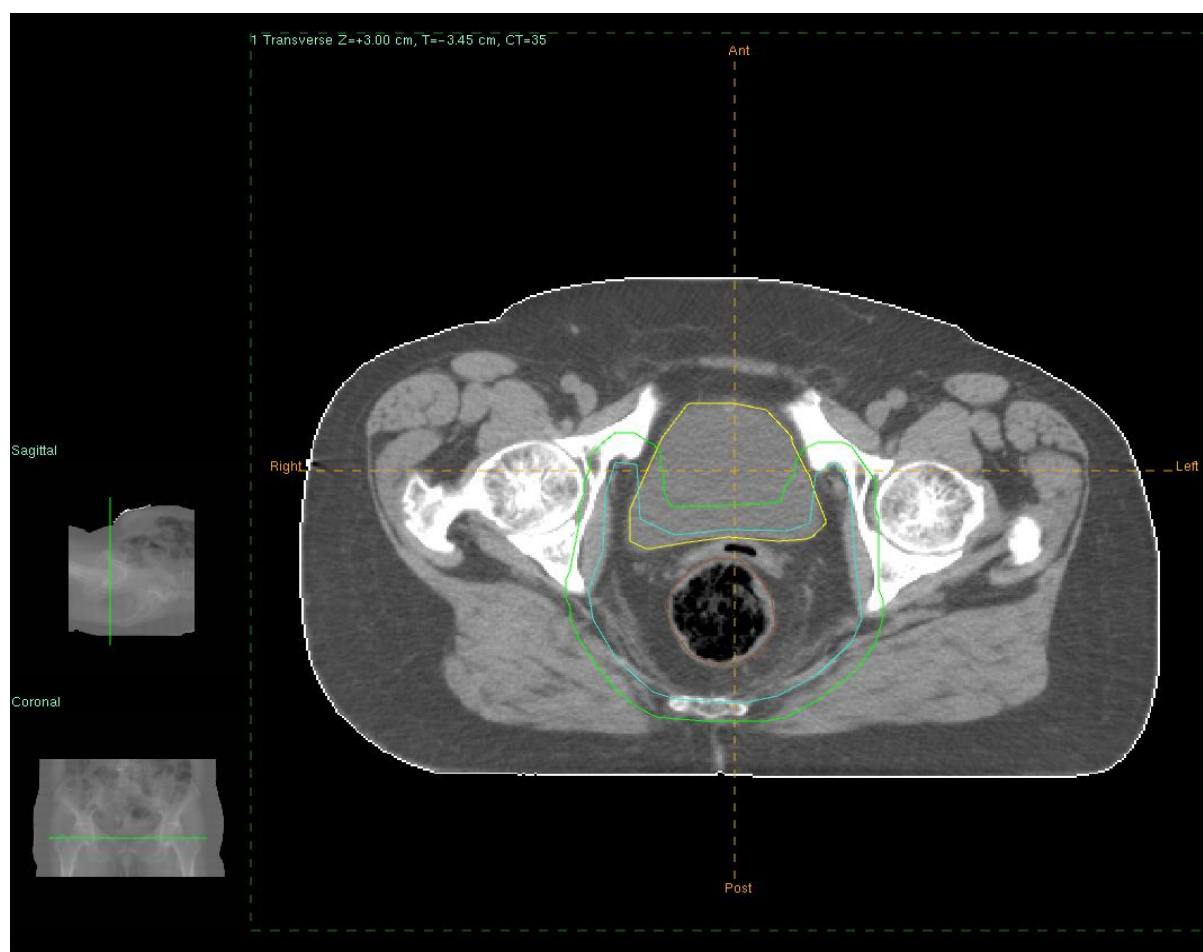
**PTV:** CTV + lem 1-2 cm

PTV byl zpravidla určen hranicemi:

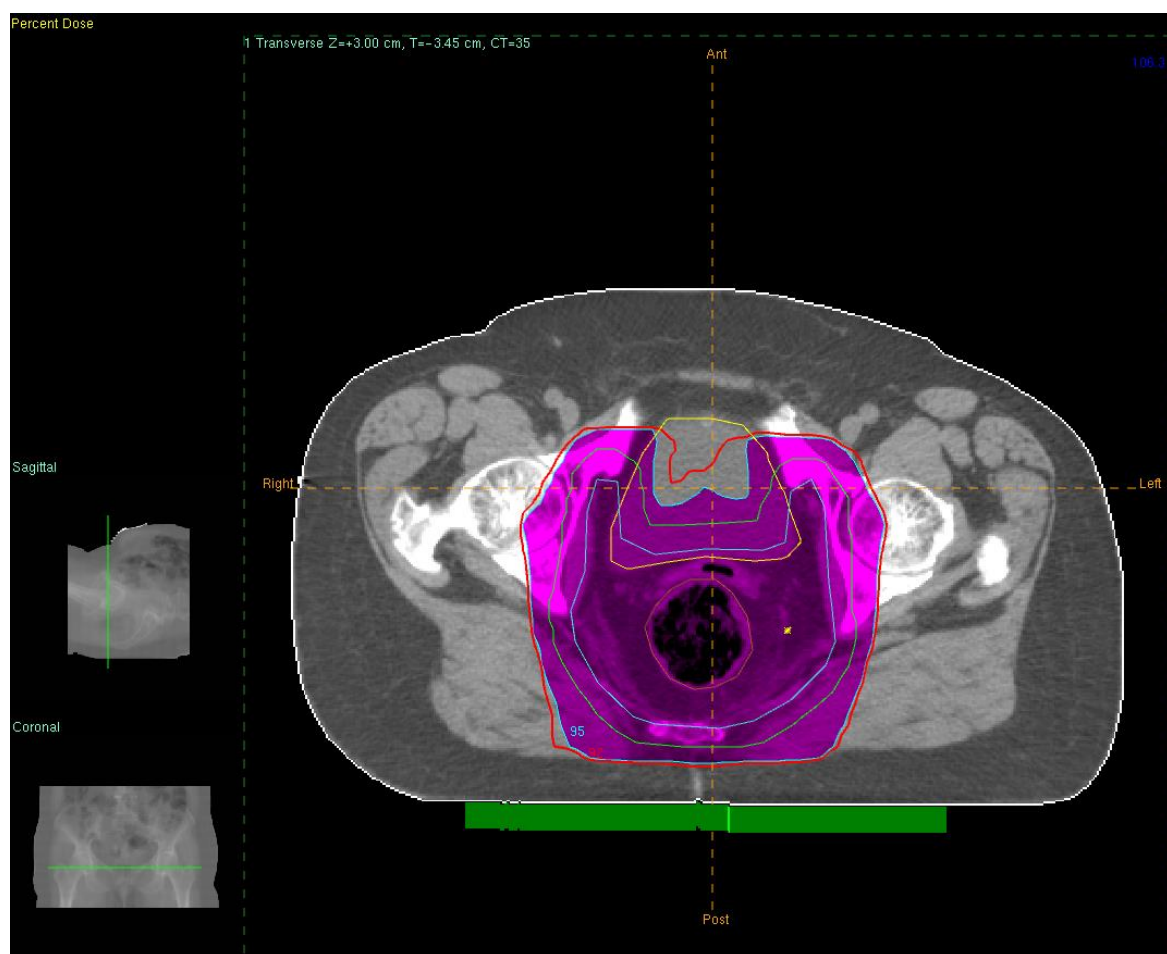
- a) kraniální hranice: rozhraní obratlů L5 – S1 (při velkém rozsahu tumoru a výše uložených tumorů je hranice rozhraní obratlů L4-5),
- b) kaudální hranice: u nádorů 4 – 8 cm od anu byl v PTV zahrnutý anální kanál a perineum; u nádorů 8 – 12 cm od anu byla kaudální hranice 5 cm od tumoru (anální kanál či perineum je v poli při nutnosti zachování bezpečnostního lemu 5 cm); u nádorů 12 – 16 cm od anu byla kaudální hranice 5 cm od tumoru, minimálně po kaudální okraj foramina obturatoria,
- c) laterální hranice: 1 - 2 cm vně od vnitřních okrajů pánevních kostí,
- d) dorzální hranice: 1 – 2 cm za ventrální okraj sakrální kosti (u lokálně pokročilých tumorů je potřeba zahrnout i sakrální kanál),
- e) ventrální hranice: 2 – 3 cm ventrálně od hranice tumoru a minimálně 2,5 – 3,5 cm ventrálně od promontoria vzhledem k průběhu lymfatických cest.

**Předepsaná dávka:** Celková dávka 44 Gy ve 22 frakcích, frakce po 2,0 Gy, celkem 5 frakcí týdně.

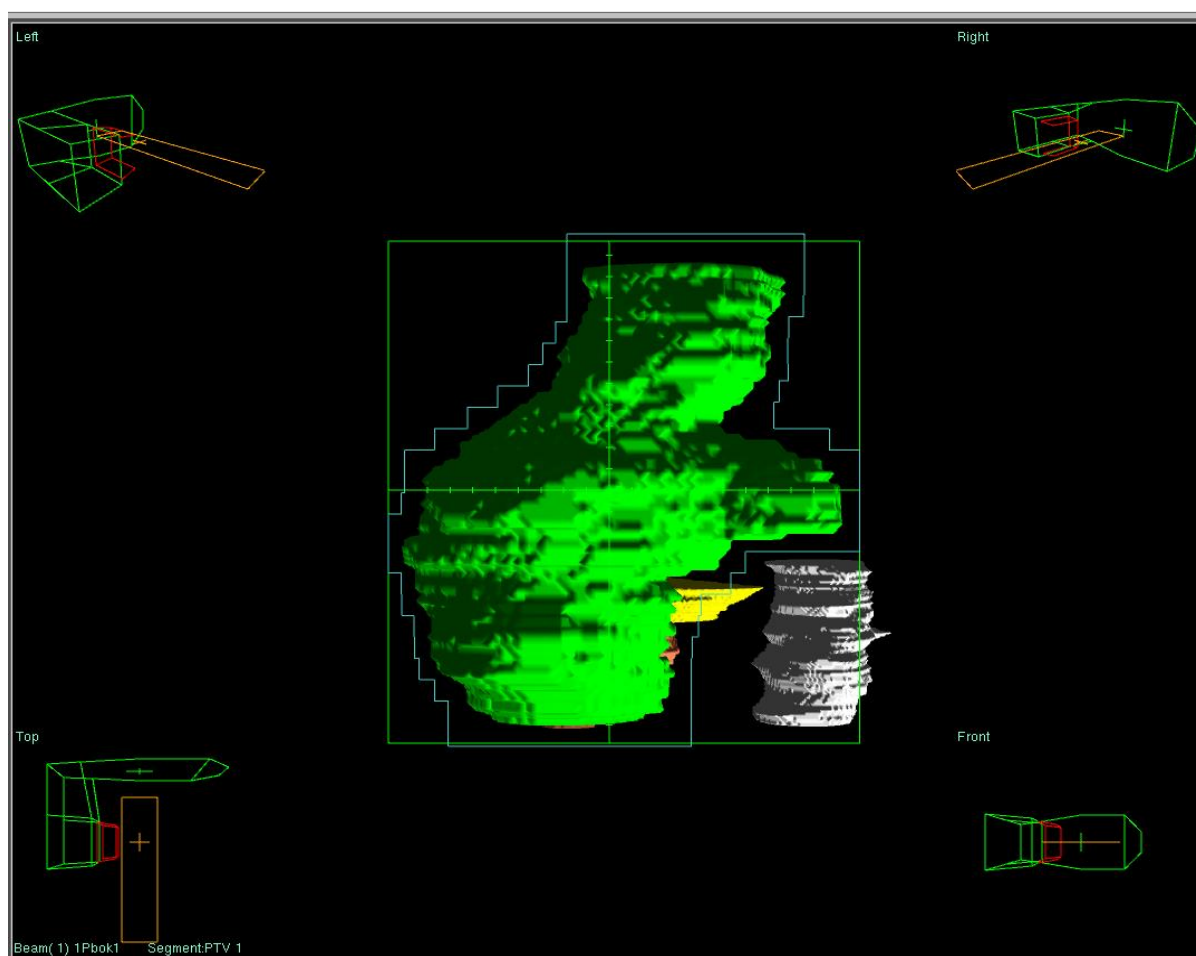
Obr. č. 8. Cílové objemy v předoperační radioterapii pro adenokarcinom rekta



Obr. č. 9. Izodozový plán předoperační radioterapie karcinomu rekta



Obr. č. 10. Prostorový tvar cílového objemu z pohledu BEV





### 3.2.2. Kritické orgány

Kritické orgány a minimální toleranční dávky (TD 5/5 – dávka záření, která za standardních podmínek radioterapie nezpůsobí více než 5% vážných komplikací v následujících 5 letech po radioterapii): Močový měchýř 60 – 65 Gy, tenké střevo 45 – 50 Gy.

### 3.2.3. Technika a plánování radioterapie

Pacienti byli ozařováni v supinační poloze, ruce na hrudi (obr. č. 11). U částí byla použita podložka pod kolena k narovnání bederní lordózy. Byl naplněn močový měchýř. Lokalizace proběhla na RTG simulátoru s AP projekcí. Následně bylo provedeno plánovací CT vyšetření s rekonstrukcí CT řezů po 5 mm. Konturace cílových objemů a kritických orgánů probíhala na plánovací stanici s využitím plánovacího systému PrecisePLAN 2,15. Zdrojem záření byl lineární urychlovač Elekta Precise nebo Elekta Synergy (Elekta, Švédsko). Bylo využito fotonové ionizující záření o energii 15 MeV. Pacienti byli ozařováni 3D konformní radioterapií nebo technikou IMRT s využitím segmentovaných polí. Tvarování polí bylo s využitím multilamelového kolimátoru lineárního urychlovače. Simulace plánu byla provedena na RTG simulátoru. Následně bylo provedeno první nastavení pacienta před ozářením a první ozářením. Verifikace byla prováděna standardně 1x týdně pomocí cone-beam CT lineárního urychlovače nebo s využitím portálového zobrazení lineárního urychlovače.

Obr. č. 11. Supinační poloha pacienta při ozáření



### 3.3. Chemoterapie

Konkomitantně byl podáván kapecitabin (Xeloda®) v dávce 825 mg/m<sup>2</sup> ve dvou denních perorálních dávkách po celou dobu radioterapie. Všech 50 pacientů bylo indikováno a léčeno konkomitantním podáním kapecitabinu.

### 3.4. Chirurgický výkon

Byla provedena amputace konečníku nebo svěrač zachovávající výkon. Chirurgický výkon byl indikován u všech pacientů s odstupem 4-8 týdnů od ukončení předoperační radiochemoterapie. Typ chirurgického výkonu závisel na lokalizaci a rozsahu primárního nádoru. Medián doby mezi ukončením radiochemoterapie a operací byl 44 dnů (6,3 týdne).

### 3.5. Hodnocení léčebné odpovědi

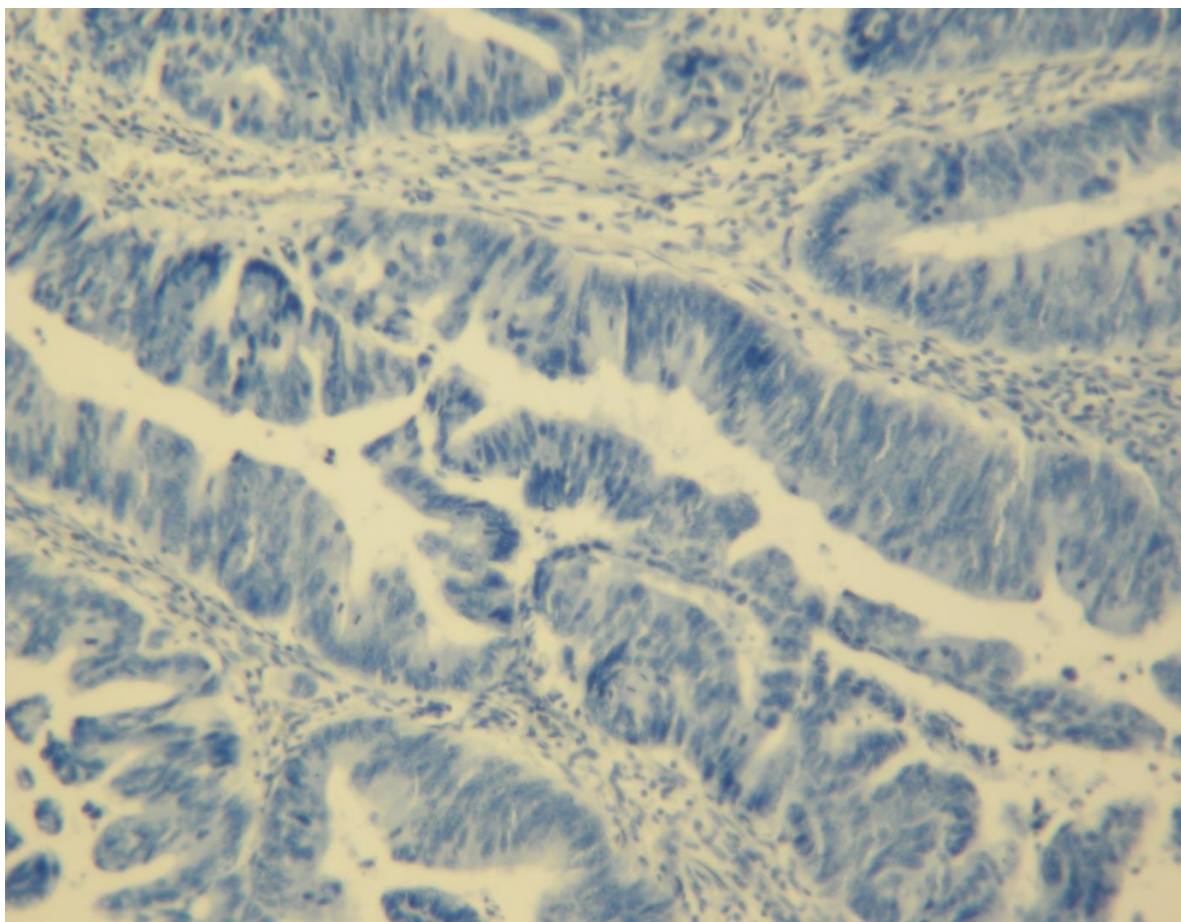
Po předoperační radiochemoterapii a operačním zákroku byl stanoven patologický staging podle TNM klasifikace [2]. Léčebná odpověď (downstaging) byla definována jako nižší patologické stadium ve srovnání s klinickým stadiem. Patologická kompletní remise byla definována jako absence nádorové tkáně v resekovaném materiálu. Stabilizace nemoci byla definována jako stejné klinické a patologické stadium. Progrese onemocnění bylo definováno jako vyšší patologické stadium než klinické stadium. R0 resekce byla definována jako odstranění celého nádoru s alespoň 1 mm čistými resekčními okraji, R1 resekce byla definována jako přítomnost pozitivního resekčního okraje zjištěného mikroskopicky. Resekce R2 byla definována jako přítomnost makroskopického rezidua tumoru po operaci.

### 3.6. Imunohistochemické vyšetření exprese EGFR a hodnocení

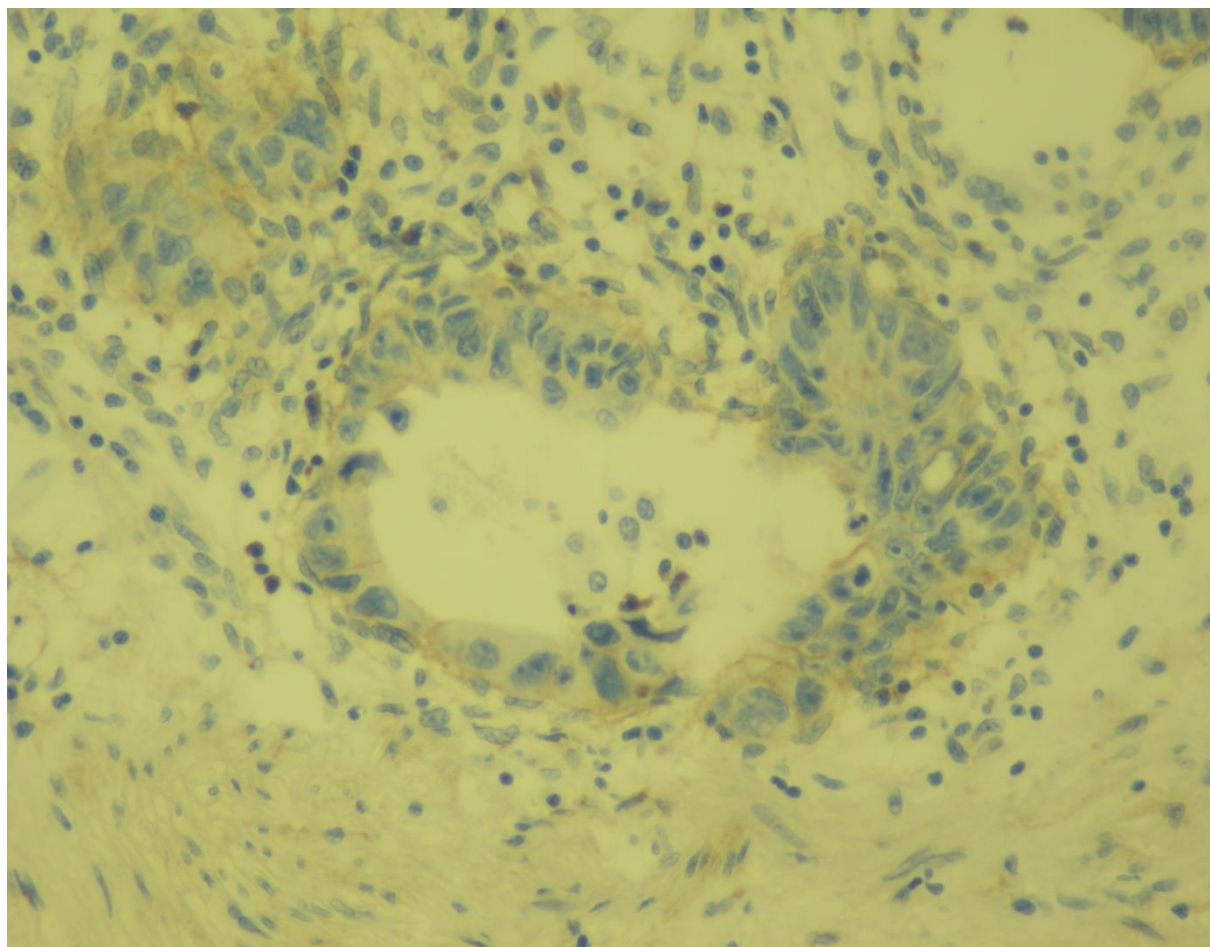
Zpracované parafinové bloky byly nakrájeny mikrotomem na řezy o tloušťce 3 µm. Proběhla standardní deparafinace xylénem s následnou rehydratací. Následně proběhla proteolytická reakce tkáně po přidání protenázy K. Endogenní peroxidázová reakce byla inhibovaná aplikací 3% roztoku peroxidu vodíku. Tkáňové řezy byly následně inkubovány při pokojové teplotě s myší monoklonální protilátkou IgG1 proti EGFR. Monoklonální protilátka byla součástí komerčně dodávaného kitu (EGFR PharmDx<sup>TM</sup>, firma Dako, Dánsko). Vzorek byl dále inkubován cca 30 min se značeným HRP polymerem a dalších 10 minut s roztokem barviva DAB+. Posléze byly vzorky obarveny hematoxylinem. Jako negativní kontrola

expres EGFR byly použité kontrolní preparáty dodávané v komerčním kitu. Odečtení bylo provedeno ve světelném mikroskopu. Preparáty byly odečteny zkušeným patologem, který nebyl obeznámen s léčebnými výsledky pacientů. Hodnocení bylo semikvantitativní a byla hodnocena intenzita zbarvení minimálně 1% nádorových buněk: 0 = žádná, 1 = slabá, 2 = střední, 3 = silná (obr. č. 12 - 15). U pacientů byly hodnoceny jednak endobioptické nálezy před zahájením léčby, jednak chirurgické resekáty po předoperační chemoradioterapii a operačním řešením.

Obr. č. 12. Hodnocení intenzity exprese EGFR: EGFR 0, zvětšení 200x

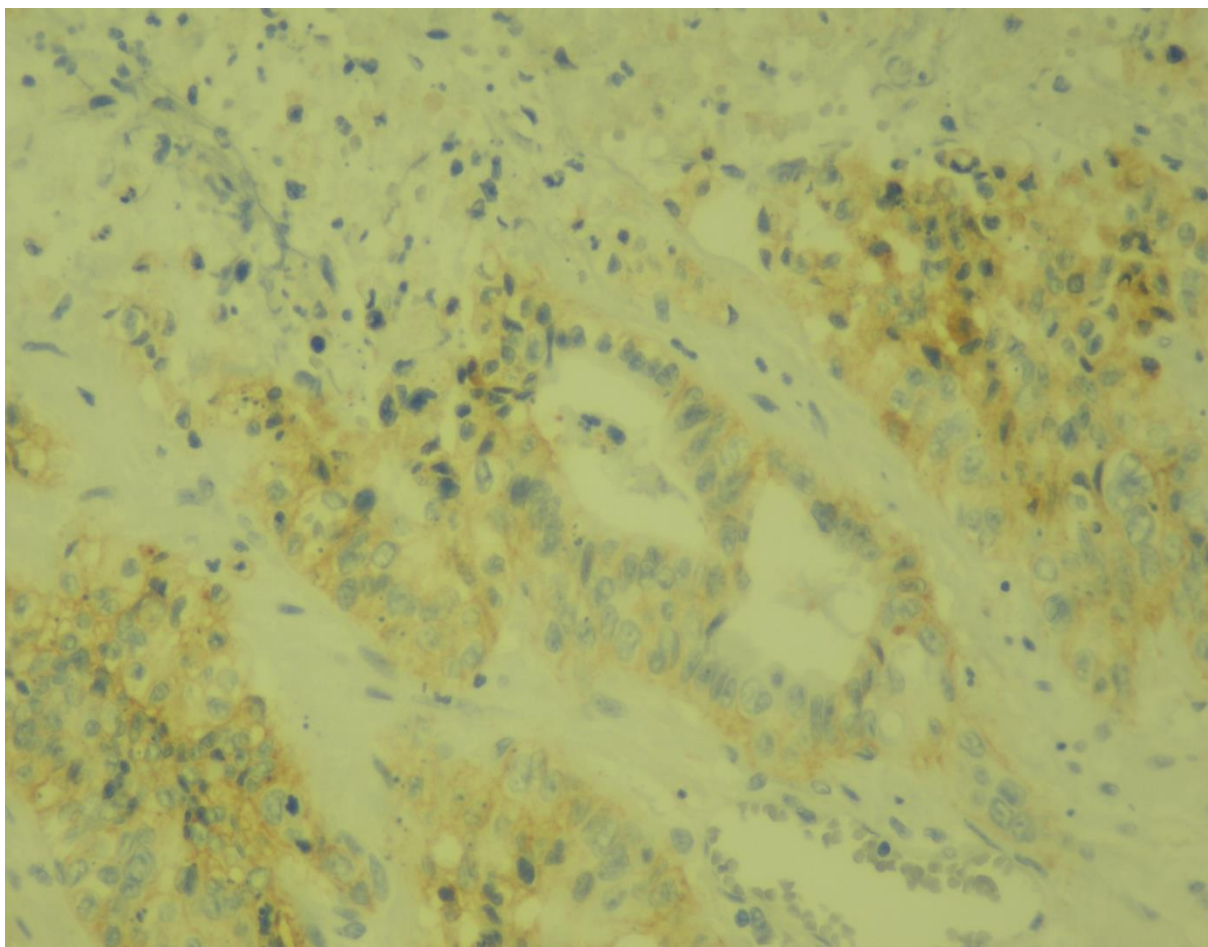


Obr. č. 13. Hodnocení intenzity exprese EGFR: EGFR 1+, zvětšení 200x

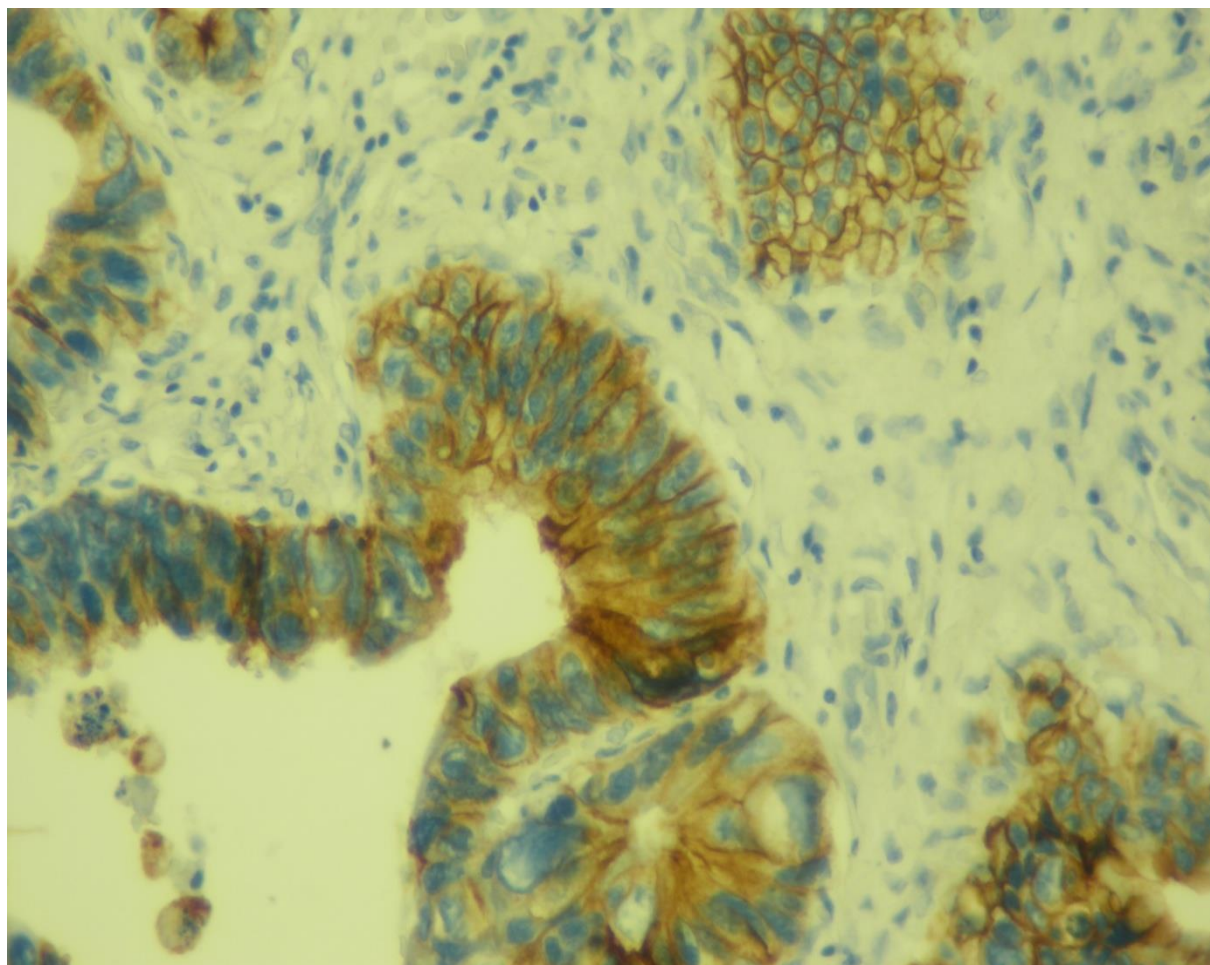




Obr. č. 14. Hodnocení intenzity exprese EGFR: EGFR 2+, zvětšení 200x



Obr. č. 15. Hodnocení intenzity exprese EGFR: EGFR 3+, zvětšení 200x





### 3.7. Statistické hodnocení dat

Ke statistickému zhodnocení byl použit program Number Cruncher Statistical Systems NCSS 9 (Kaysville, Utah, USA). Celková doba přežití (OS) = doba od stanovení diagnózy po úmrtí nebo do dne poslední kontroly u přeživších. Přežití bez známek recidivy (DFS) = doba od operace do objevení recidivy nebo poslední kontroly u pacienta bez recidivy. Celkové přežití a přežití bez známek recidivy bylo vypočteno pomocí Kaplan-Meierovy analýzy. Při zhodnocení vlivu exprese EGFR na léčebné výsledky (OS, DFS) byl použit log-rank test. Při hodnocení celkového přežití a přežití bez známek recidivy za 3 a 5 let nebyly hodnoceny cenzorovaní pacienti s kratší dobou sledování než 3 nebo 5 let. Dále byla počítaná multivariační Coxova regresní analýza vlivu jednotlivých faktorů na celkové přežití a přežití bez známek recidivy. Všechny statistické testy byly hodnoceny na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

#### 4. Výsledky

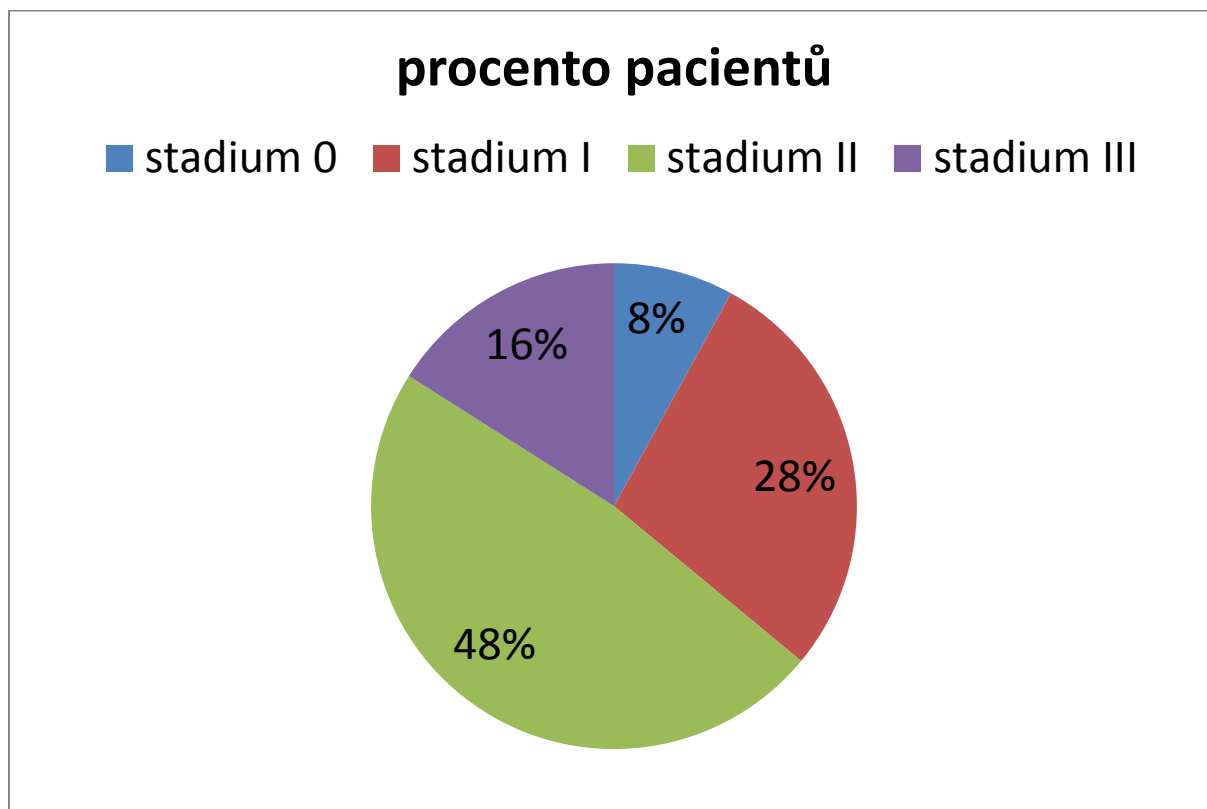
Chirurgický výkon byl indikován u všech pacientů s odstupem 4-8 týdnů od ukončení předoperační radiochemoterapie. Medián doby mezi ukončením radiochemoterapie a operací byl 44 dnů (6,3 týdne). U 30 pacientů byl proveden svěrač šetřící výkon, 20 pacientů podstoupilo amputaci konečníku. Ani jeden pacient nebyl posouzen chirurgem jako inoperabilní. R0 resekce byla u 47 pacientů, mikroskopický pozitivní okraj byl popsán patologem u 3 pacientů. U žádného pacienta nebylo ponecháno chirurgem makroskopické reziduum (tab. č. 13).

Tab. č. 13. Typ a radikalita chirurgického výkonu

	R0	R1	R2	Sfinkter šetřící operace	Amputace rekta	Paliativní výkon
Počet pacientů	47	3	0	30	20	0

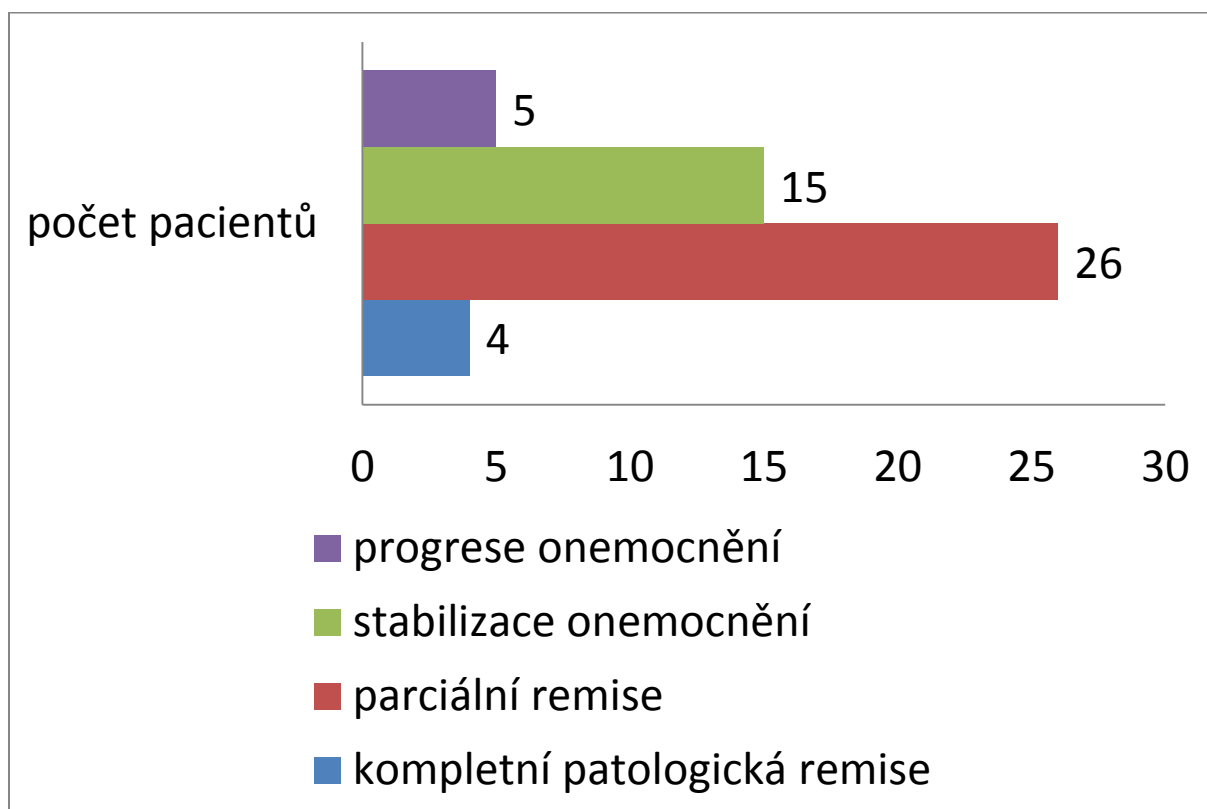
Podle patologické TNM klasifikace bylo po operaci v prvním klinickém stadiu 14 pacientů (28 %), ve druhém klinickém stadiu 24 pacientů (48 %), ve třetím klinickém stadiu 8 pacientů (16 %). U 4 pacientů (8 %) byla popsána kompletní patologická remise onemocnění. U žádného pacienta nebyla popsána peroperačně generalizace onemocnění (obr. č. 16).

Obr. č. 16. Patologické klinické stadium dle TNM klasifikace [2]



Downstaging byl popsán u 30 pacientů (60 %). U 4 pacientů (8 %) byla popsána patologická kompletní remise. Dvacetšest pacientů (52 %) mělo parciální remisi, 15 pacientů mělo stabilizaci onemocnění (30 %). Progrese onemocnění byla popsána u 5 pacientů (10 %) (obr. č. 17).

Obr. č. 17. Léčebná odpověď po předoperační radiochemoterapii



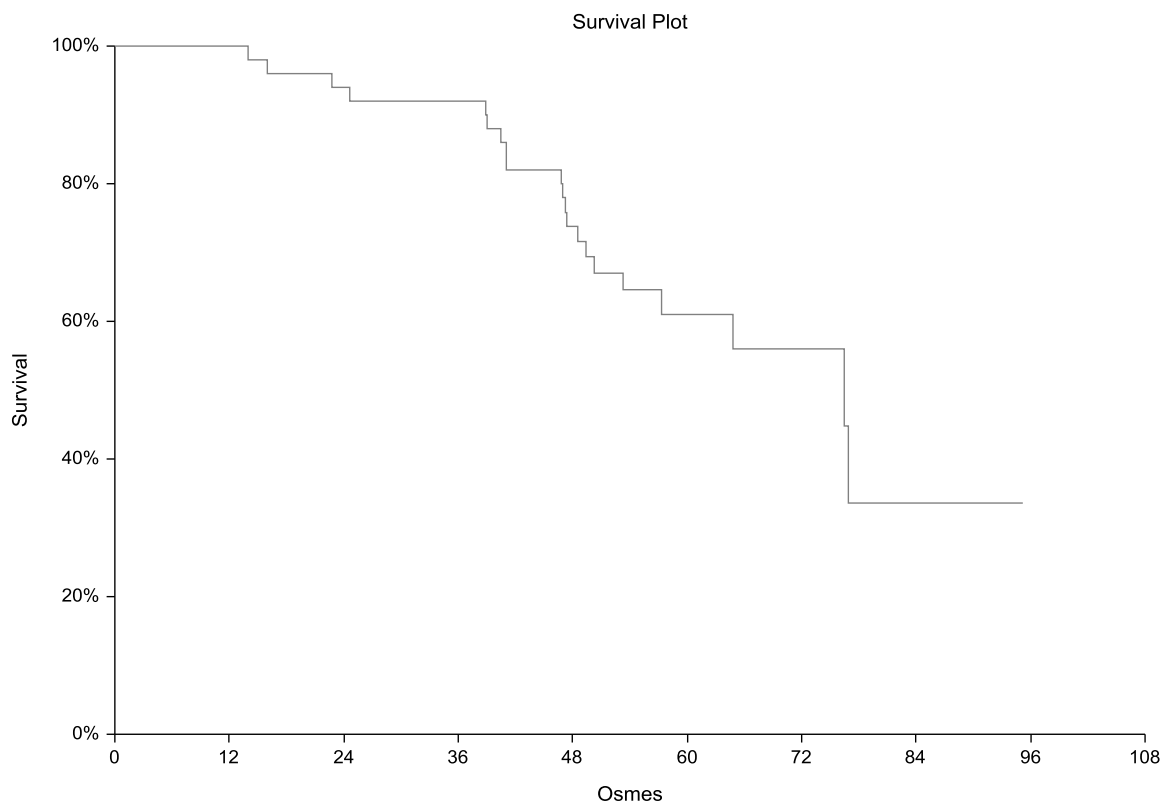
#### 4.1. Celkové přežití

V době hodnocení (k 31.12.2013) byl medián follow up 51,3 měsíce. Zemřelo celkem 21 pacientů, žilo 29 pacientů. Medián celkového přežití činil 76,4 měsíce (95% CI: 57,3 – 76,9 měsíce).

5-ti leté celkové přežití bylo hodnoceno u 35 pacientů a činilo 48,57 %.

3leté přežití bylo hodnoceno u všech pacientů a představovalo 92 % (obr. č. 18).

Obr. č. 18. Celkové přežití 50 pacientů v souboru.



Osa X: Celkové přežití (měsíce)

Osa Y: Procento pacientů celkově přeživajících

## 4.2. Přežití bez známek recidivy

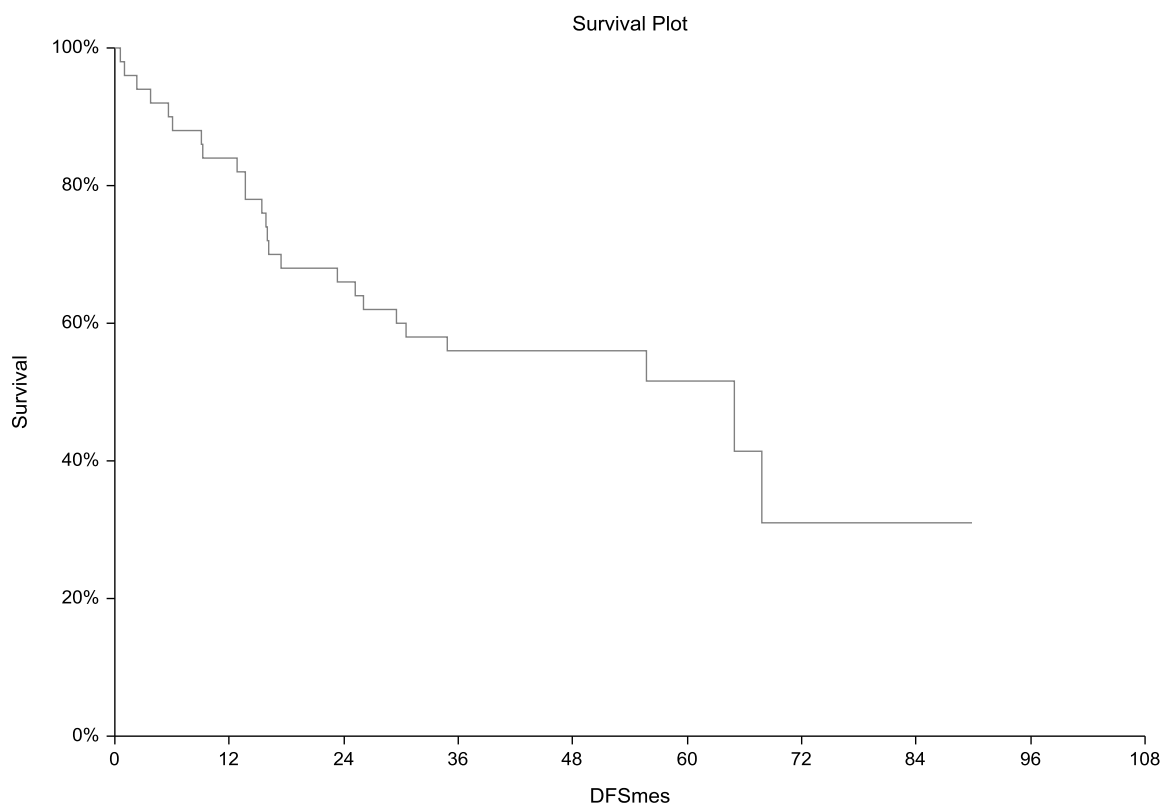
V době hodnocení (k 31.12.2013) byl medián follow up 51,3 měsíce. Recidiva se objevila celkem u 25 pacientů, 25 pacientů bylo bez známek recidivy. U 8 pacientů byla popsána lokální recidiva, generalizace onemocnění byla popsána u 17 pacientů. Nejčastějším místem výskytu metastáz byly játra (8 pacientů) a plíce (7 pacientů). 1 pacient měl metastatické postižení mozku, 1 pacient měl metastaticky postižené retroperitoneální lymfatické uzliny.

Medián přežití bez známek recidivy činil 64,9 měsíce (95% CI: 26,1 – 67,8 měsíce).

5-ti leté přežití bez známek recidivy bylo hodnoceno u 34 pacientů a činilo 32,35 %.

3leté přežití bylo hodnoceno u všech pacientů a představovalo 56 % (obr. č. 19).

Obr. č. 19. Přežití bez známek recidivy 50 pacientů v souboru.



Osa X: Přežití bez známek recidivy (měsíce)

Osa Y: Procento pacientů přežívajících bez známek recidivy

### 4.3. Receptor pro epidermální růstový faktor (EGFR)

Expres EGFR byla vyšetřena a zhodnocena u 50 pacientů v endobiopsii. V endobiopsii byla zjištěna expres EGFR 1+ u 18 pacientů, EGFR 2+ u 5 pacientů a EGFR 3+ u 5 pacientů. Celkově byla zjištěna expres EGFR u 28 pacientů. U 22 pacientů nebyla zjištěna expres EGFR v endobiopsii (tab. č. 14).

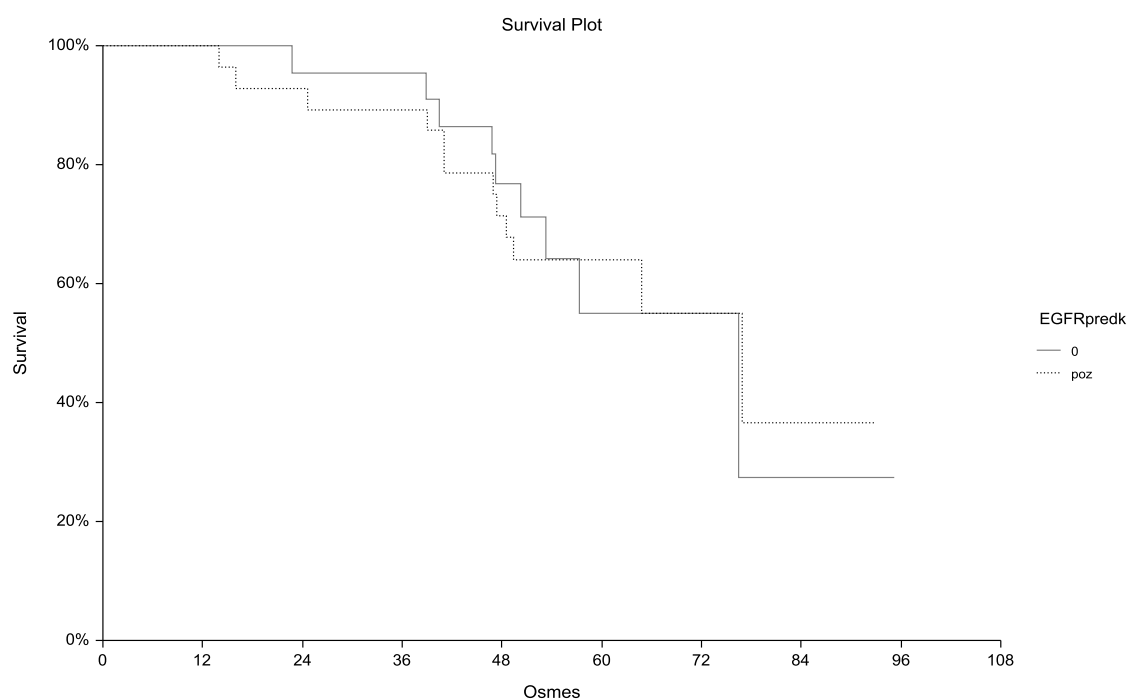
Tab. č. 14. Expres EGFR v endobiopsii

	0	1+	2+	3+
EGFR endobiopsie	22	18	5	5

Nebyl pozorován statisticky významný prognostický vliv exprese EGFR v endobiopsii na celkové přežití.

Medián celkové přežití u pacientů s expresí EGFR v endobiopsii činil 76,9 měsíce (95% CI 49,4 – 76,9 měsíce). Medián celkového přežití u pacientů bez exprese EGFR v endobiopsii činil 76,4 měsíce (95% CI 53,3 – 76,4 měsíce). Logrank:  $p = 0,9676$  (obr. č. 20)

Obr. č. 20. Vliv exprese EGFR v endobiopsii na celkové přežití



Osa X: Celkové přežití (měsíce)

Osa Y: Procento pacientů celkově přeživajících

Plná čára: exprese EGFR v endobiopsii před léčbou: 0

Tečkovaná čára: exprese EGFR v endobiopsii před léčbou: pozitivní (+1, +2, +3)

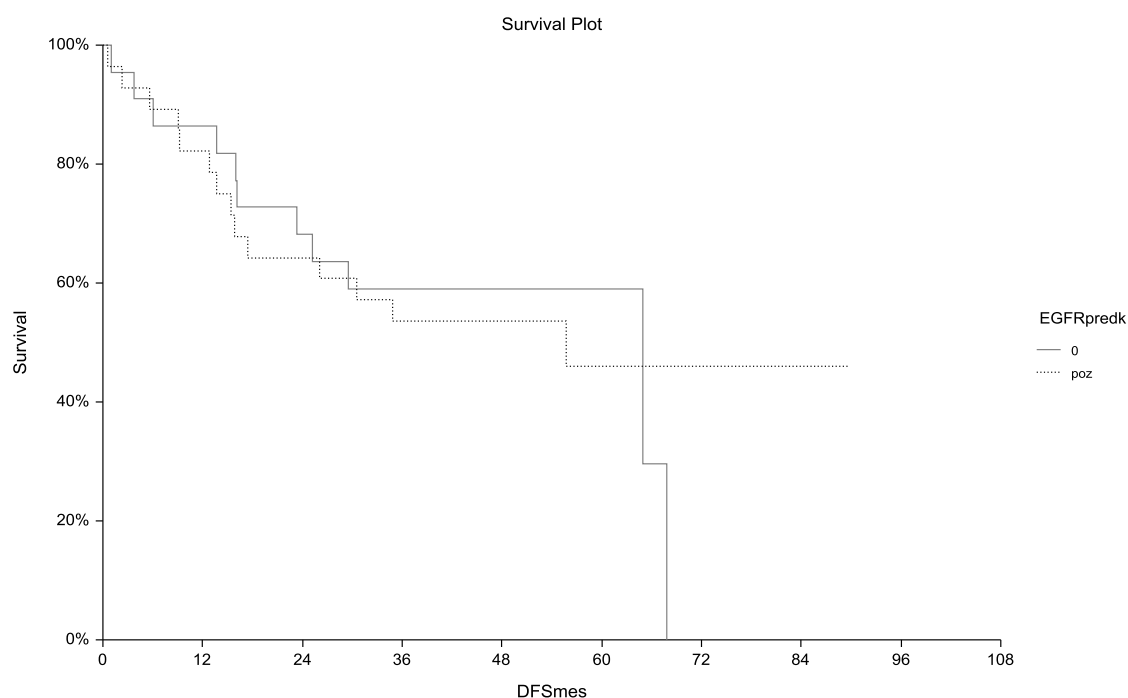
Logrank test:  $p = 0,9676$



Nebyl pozorován statisticky významný prognostický vliv exprese EGFR v endobiopsii na přežití bez známek recidivy.

Medián přežití bez známek recidivy u pacientů s expresí EGFR v endobiopsii činil 55,7 měsíce (95% CI 17,4 – 55,7 měsíce). Medián přežití bez známek recidivy u pacientů bez exprese EGFR v endobiopsii činil 64,9 měsíce (95% CI 23,3 – 67,8 měsíce). Logrank:  $p = 0,9837$  (obr. č. 21).

Obr. č. 21. Vliv exprese EGFR v endobiopsii na přežití bez známek recidivy



Osa X: Přežití bez známek recidivy (měsíce)

Osa Y: Procento pacientů přeživajících bez známek recidivy

Plná čára: exprese EGFR v endobiopsii před léčbou: 0

Tečkovaná čára: exprese EGFR v endobiopsii před léčbou: pozitivní (+1, +2, +3)

Logrank test:  $p = 0,9837$

Expresse EGFR byla vyšetřena a zhodnocena u 46 pacientů v definitivním resekátu. U 4 pacientů nebyla expresse EGFR vyšetřena v resekátu, protože byla dosažena patologická kompletní remise po předoperační radiochemoterapii. V resekátu byla zjištěna expresse EGFR 1+ u 8 pacientů, EGFR 2+ u 11 pacientů a EGFR 3+ u 4 pacientů. Celkově byla zjištěna expresse EGFR u 23 pacientů. U 23 pacientů nebyla zjištěna expresse EGFR v resekátu (tab. č. 15).

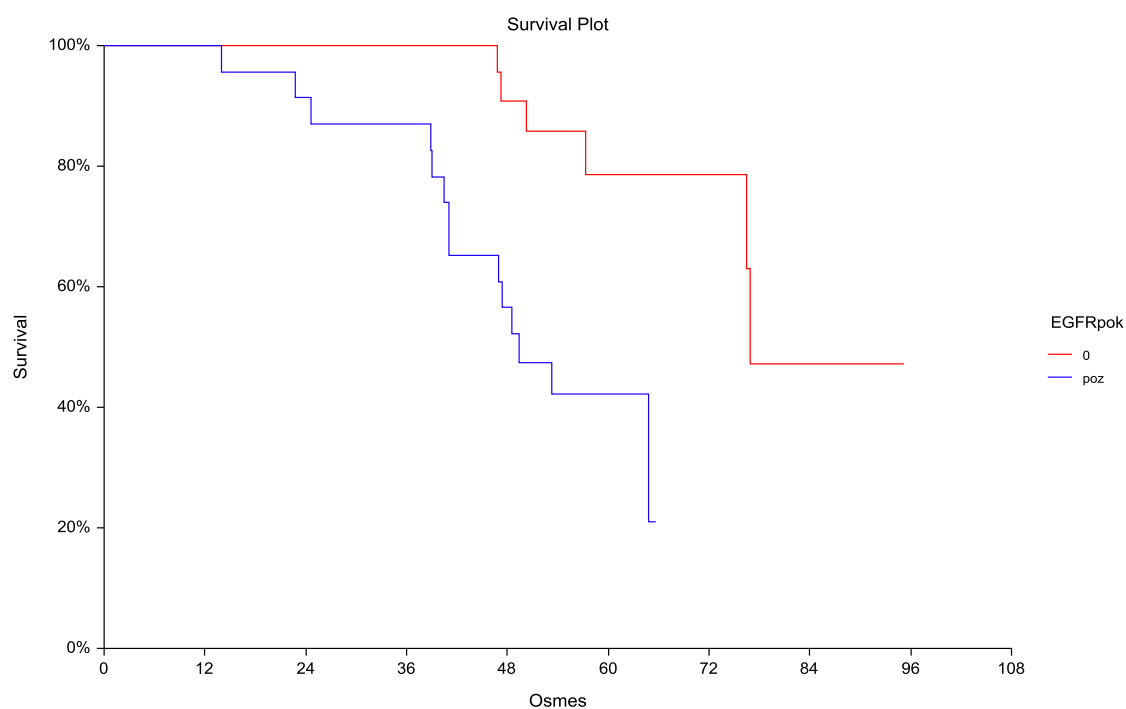
Tab. č. 15. Expresse EGFR v resekátu

	0	1+	2+	3+
EGFR resekát	23	8	11	4

Byl zjištěn statisticky významný prognostický vliv exprese EGFR v resekátu po předoperační radiochemoterapii na celkové přežití.

Medián celkové přežití u pacientů s expresí EGFR v resekátu činil 49,4 měsíce (95% CI 41,1 – 64,8 měsíce). Medián celkového přežití u pacientů bez exprese EGFR v resekátu činil 76,9 měsíce (95% CI 76,4 – 76,9 měsíce). Logrank: **p = 0,001** (obr. č. 22).

Obr. č. 22. Vliv exprese EGFR v resekátu na celkové přežití



Osa X: Celkové přežití (měsíce)

Osa Y: Procento pacientů celkově přeživajících

Červená čára: exprese EGFR v resekátu po léčbě: 0

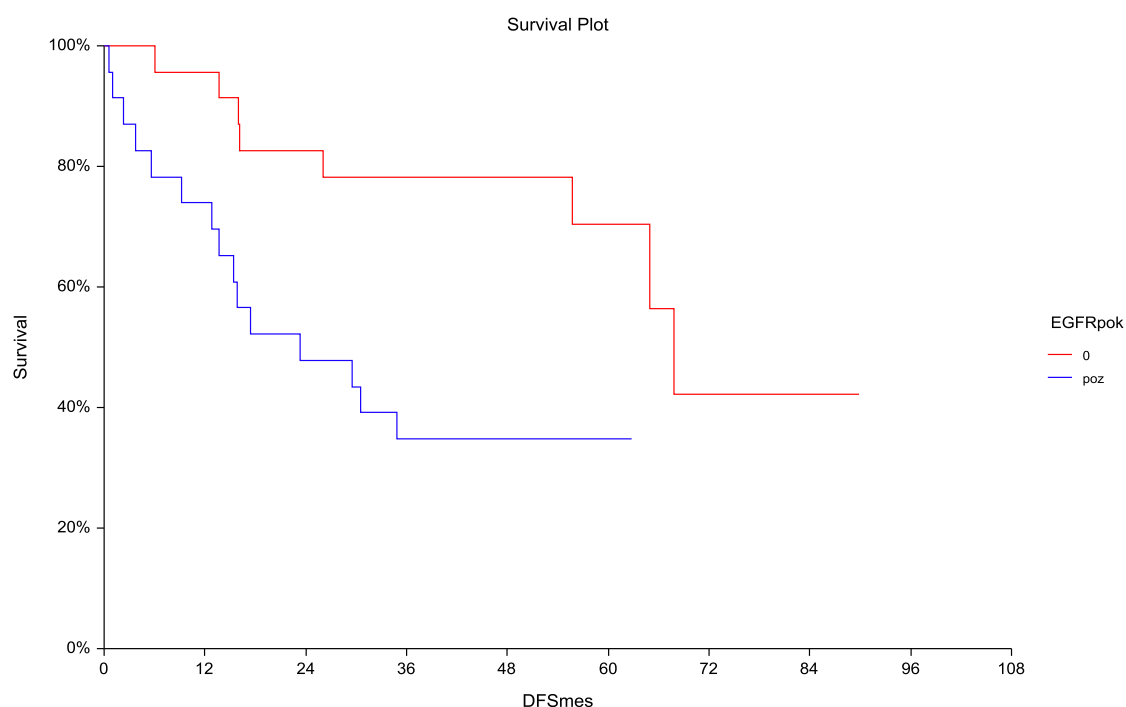
Modrá čára: exprese EGFR v resekátu po léčbě: pozitivní (+1, +2, +3)

Logrank test: **p = 0,001**

Byl zjištěn statisticky významný prognostický vliv exprese EGFR v resekátu po předoperační radiochemoterapii na přežití bez známek recidivy.

Medián přežití bez známek recidivy u pacientů s expresí EGFR v resekátu činil 23,3 měsíce (95% CI 13,7 – 34,8 měsíce). Medián přežití bez známek recidivy u pacientů bez exprese EGFR v resekátu činil 67,8 měsíce (95% CI 55,7 – 67,8 měsíce). Logrank: **p = 0,0032** (obr. č. 23).

Obr. č. 23. Vliv exprese EGFR v resekátu na přežití bez známek recidivy



Osa X: Přežití bez známek recidivy (měsíce)

Osa Y: Procento pacientů přeživajících bez známek recidivy

Červená čára: exprese EGFR v resekátu po léčbě: 0

Modrá čára: exprese EGFR v resekátu po léčbě: pozitivní (+1, +2, +3)

Logrank test: **p = 0,0032**

V rámci hodnocení změny exprese EGFR bylo hodnoceno 46 pacientů. U 4 pacientů nebyla exprese EGFR vyšetřena v resekátu, protože byla dosažena patologická kompletní remise po předoperační radiochemoterapii. Zvýšení exprese EGFR bylo zjištěno u 12 pacientů. U 34 pacientů nebylo zvýšení exprese EGFR pozorováno (23 pacientů bez změny exprese EGFR, 11 pacientů s poklesem exprese EGFR, tab. č. 16).

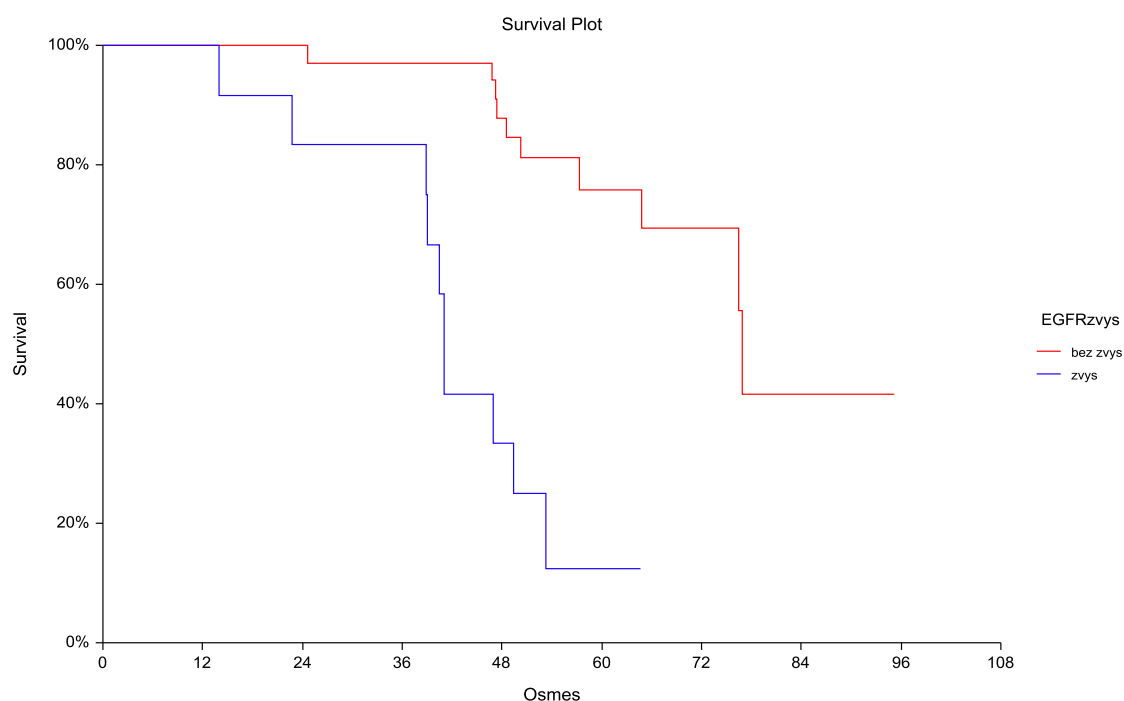
Tab. č. 16. Změna exprese EGFR v souboru

	Počet pacientů
EGFR – zvýšení exprese	12
EGFR – beze změny exprese EGFR	23
EGFR – snížení exprese EGFR	11

Byla zjištěna statisticky významné kratší doba celkového přežití u pacientů se zvýšením exprese EGFR ve srovnání s pacienty, kde nebyla pozorována zvýšená exprese EGFR během předoperační radiochemoterapie.

Medián celkového přežití u pacientů se zvýšením exprese EGFR činil 41,1 měsíce (95% CI 39,1 – 47,0 měsíce). Medián celkového přežití u pacientů bez zvýšení exprese EGFR činil 76,9 měsíce (95% CI 76,4 – 76,9 měsíce). Logrank:  **$p < 0,0001$**  (obr. č. 24).

Obr. č. 24. Vliv změny exprese EGFR na celkové přežití



Osa X: Celkové přežití (měsíce)

Osa Y: Procento pacientů celkově přeživajících

Červená čára: EGFR bez zvýšení exprese

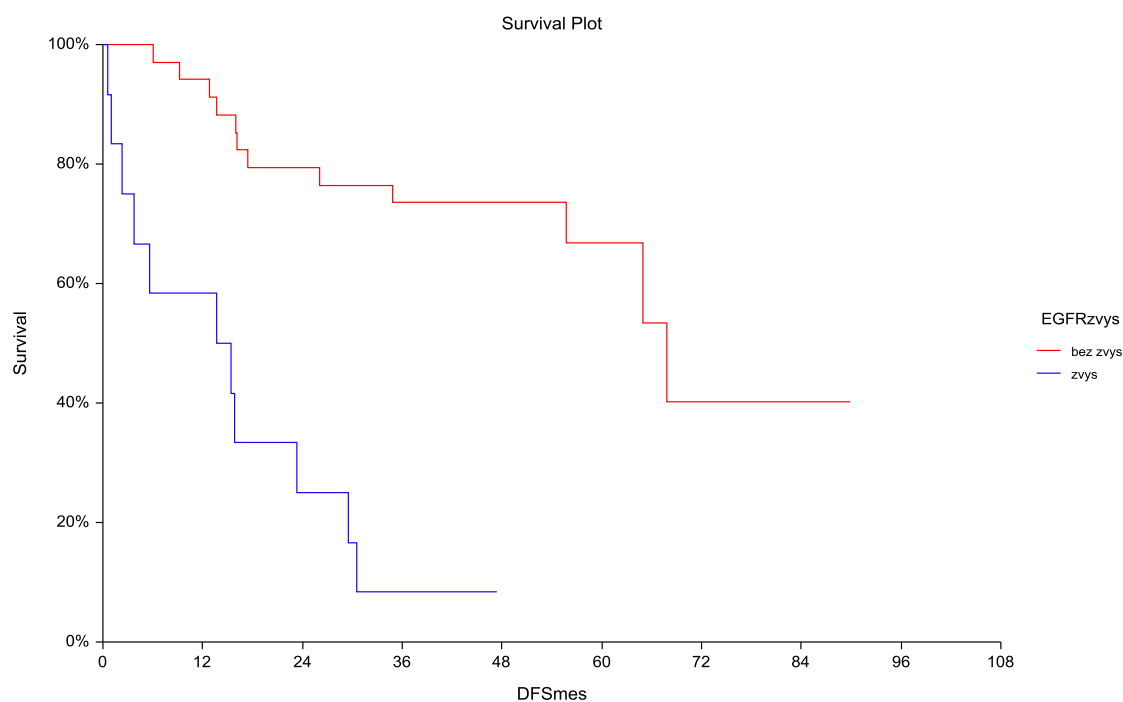
Modrá čára: EGFR se zvýšením exprese

Logranktest:  **$p < 0,0001$**

Byla zjištěna statisticky významné kratší doba přežití bez známek recidivy u pacientů se zvýšením exprese EGFR ve srovnání s pacienty, kde nebyla pozorována zvýšená exprese EGFR během předoperační radiochemoterapie.

Medián přežití bez známek recidivy u pacientů se zvýšení exprese EGFR činil 13,7 měsíce (95% CI 3,8 – 15,8 měsíce). Medián přežití bez známek recidivy u pacientů bez zvýšení exprese EGFR činil 67,8 měsíce (95% CI 55,7 – 67,8 měsíce). Logrank: **p < 0,0001** (obr. č. 25).

Obr. č. 25. Vliv změny exprese EGFR na přežití bez známek recidivy



Osa X: Přežití bez známek recidivy (měsíce)

Osa Y: Procento pacientů přežívajících bez známek recidivy

Červená čára: EGFR bez zvýšení exprese

Modrá čára: EGFR se zvýšením exprese

Logrank test: **p < 0,0001**

#### **4.4. Multivariační analýza prognostických faktorů na léčebné výsledky**

Pomocí Coxové regresní analýzy byly hodnoceny nezávislé prognostické faktory na celkové léčebné výsledky. Mezi významné prognostické faktory příznivě ovlivňující celkové přežití patřilo dosažení downstagingu po předoperační radiochemoterapii, ženské pohlaví, sfinkter zachovávající operace. Jako významně negativní prognostický faktor celkového přežití patřila pozitivita exprese EGFR jednak v předoperační endobiopsii, jednak v definitivním resekátu. Nádorový grade, lokalizace tumoru, klinické stadium, patologické stadium, předoperační hodnoty hemoglobinu neprokázaly významný vliv na celkové přežití. Vliv CEA nebyl hodnocen pro menší počet vyšetřených pacientů (tab č. 17).



Tab. č. 17. Multivariační analýza nezávislých faktorů na celkové přežití

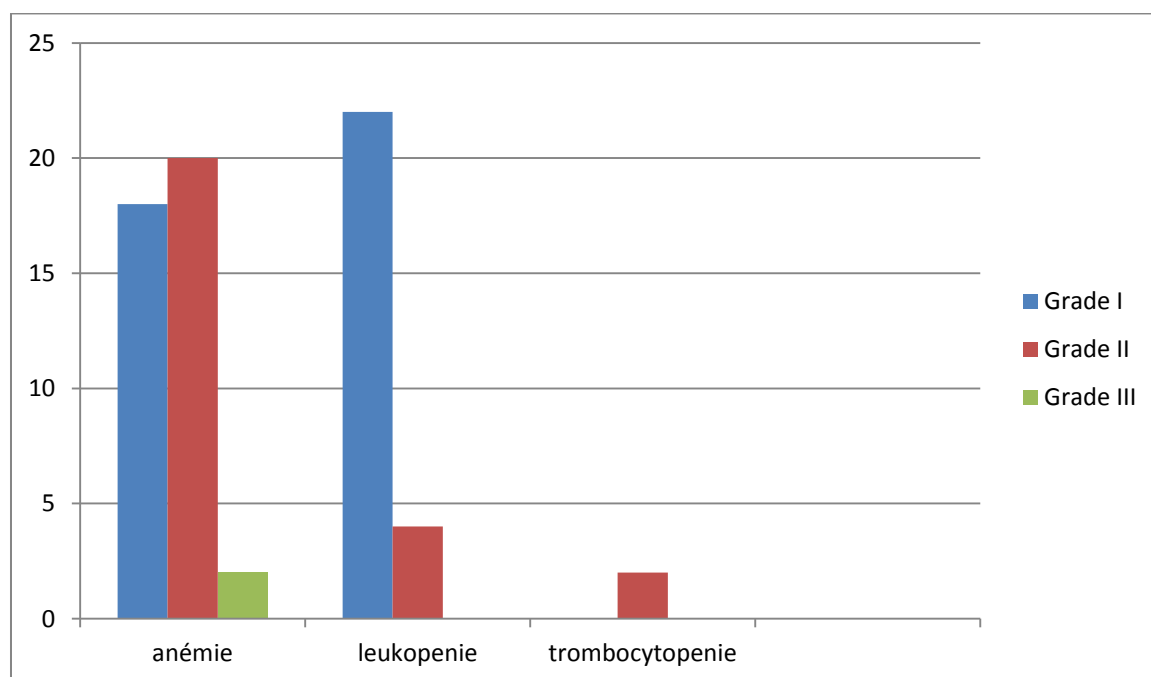
Nezávislý prognostický faktor	p-value	Risk ratio	95% CI
Downstaging	<b>0,0422</b>	30,68	0,94 – 1000,71
Nádorový grade	0,1158	14,37	0,75 – 275,52
Pohlaví	<b>0,0005</b>	100,01	5,18 – 1929,43
Klinické stadium	0,0579	0,091	0,006 – 1,34
Patologické stadium	0,0902	7,907	0,24 – 259,91
Lokalizace tumoru	0,2483	7,046	0,56 – 87,48
Vstupní hodnota hemoglobinu	0,1123	0,954	0,89 – 1,0125
EGFR+ endobiopsie	<b>0,0156</b>	0,082	0,008 – 0,78
EGFR+ resekát	<b>0,0001</b>	1336,817	35,05 – 10000,0
Sfinkter šetřící operace	<b>0,0279</b>	0,052	0,0031 – 0,8608

(tlustě zvýrazněné hodnoty jsou statisticky významné)

#### 4.5. Toxicita léčby

Všech 50 pacientů absolvovalo radioterapii bez přerušení. Konkomitantní chemoterapii nedokončili z důvodu akutní toxicity 4 pacienti. Toxicita byla hodnocena podle škály EORTC/RTOG. Ani jeden pacient nebyl akutně hospitalizován z důvodu toxicity léčby. Ani jeden pacient nezemřel na akutní toxicitu léčby. Při hodnocení nehematologické toxicity nebyl prokázán stupeň III nebo IV. Nejčastějším typem toxicity byla gastrointestinální toxicita, kde byl stupeň I a II pozorován u 28 pacientů. U 16 pacientů byla popsána nevolnost a zvracení. Genitourinární toxicita byla popsána u 25 pacientů, astenie byla pozorována u 17 pacientů. Hematologická toxicita byla celkově vyjádřena u 33 pacientů. Anémie stupně I byla zjištěna u 6 nemocných, stupně II u 9 nemocných, stupeň III byl vyjádřen u jednoho nemocného. Leukopénie stupně I byla zjištěna v 11 případech, stupně II byl u 2 nemocných. Jedna nemocná měla vyjádřenou trombocytopenii stupně II (obr. č. 26). Medián nadiru hemoglobinu byl 115, 5 g/l, nadiru leukocytů  $4,55 \cdot 10^9/l$ , nadiru trombocytů  $182,5 \cdot 10^9/l$  (tab. č. 18). Sekundární zhoubné onemocnění se vyskytlo u jedné pacientky, která na toto onemocnění zemřela. Diagnostikován byl maligní melanom s časnou diseminací. Melanom byl zjištěn v jiné lokalizaci, než byla aplikovaná dávka ozáření.

Obr. č. 26. Hematologická toxicita pacientů léčených předoperační radiochemoterapií (%).



Tab. č. 18. Hodnoty mediánu nadiru hemoglobinu, leukocytů a trombocytů

Ukazovatel	Hemoglobin (g/l)	Leukocyty (10 <sup>9</sup> /l)	Trombocyty (10 <sup>9</sup> /l)
Počet hodnocených pacientů	50	50	50
Medián	115,5	4,55	182

## 5. Diskuze

### 5.1. Radiochemoterapie karcinomu rekta

Adenokarcinom rekta se řadí mezi nejčastěji se vyskytující zhoubná onemocnění v České republice [1]. Adenokarcinom rekta je v literatuře řazen po stránce epidemiologické, etiologické a histologické do skupiny kolorektálního karcinomu [3]. Zhoubné nádory konečníku jsou typické nejenom možností vzdálené diseminace nemoci, ale i častým výskytem lokálních recidiv. Tato skutečnost souvisí s anatomickým uložením konečníku v pánevní oblasti a jeho těsným vztahem k pánevním strukturám, kde může docházet přesunu nádorových buněk do stěn pánve. Riziko lokální recidivy lze snížit radioterapií, jak prokázala metaanalýza 22 klinických studií od roku 1987, která hodnotila postavení jak předoperační radioterapie (6350 pacientů), tak i pooperační radioterapie (2157 pacientů) v porovnání se samostatným chirurgickým výkonem. Celkové přežití nebylo ovlivněno [4]. Největší uplatnění má v dnešní době předoperační radiochemoterapie. Výhody předoperační léčby byly již uvedeny v úvodní části práce. Předoperační radiochemoterapie prokázala ve srovnání s pooperační radiochemoterapií významně nižší výskyt lokálních recidiv a nižší výskyt jak časných, tak i pozdních nežádoucích účinků. Celkové přežití nebylo ovlivněno [12, 13]. Léčebné výsledky ale mohou být ovlivněny skutečností, že část nemocných nezahájí nebo nedokončí pooperační léčbu z důvodů zhoršeného stavu po operačním řešení. V rámci klinické studie EORTC 22921 byla pooperační léčba spojena s horší compliance pacientů a vyšší toxicitou. Až 27 % pacientů nebylo ani adjuvantní léčbou léčeno pro pooperační komplikace, časnou progresi onemocnění nebo odmítnutí léčby [23]. Při hodnocení léčebných výsledků předoperační radiochemoterapie v porovnání s pooperační léčbou je nutno vzít v úvahu, že část pacientů léčených předoperační radiochemoterapií je následně také indikována k adjuvantnímu podání cytostatické léčby. Tato léčba může mít vliv na celkové léčebné výsledky. Výše zmíněná studie prokázala statisticky nevýznamný 4 % rozdíl v celkovém přežití ve prospěch pacientů léčených adjuvantní chemoterapií při mediánu sledování 5,4 roku ( $p = 0,12$ ). Novější data prokázala významný rozdíl v celkovém přežití po přidání adjuvantní chemoterapie jenom u stadia pT0-2. Adjuvantní chemoterapie neměla vliv na četnost lokálních recidiv [24]. Jedním z vysvětlení, proč předoperační i pooperační radioterapie a radiochemoterapie nezlepšuje celkové přežití u pacientů s adenokarcinomem rekta, je vznik časně subklinické systémové diseminace již v době diagnózy [20]. Tuto hypotézu potvrdily i další klinické práce [21, 22, 25, 42], ve kterých je nacházen přibližně

stejný počet vzdálených metastáz (kolem 30 %). Předoperační radioterapii je vhodné potencovat chemoterapií [20 - 22]. Nejčastěji se používá 5-FU nebo kapecitabin. Předoperační radiochemoterapie statisticky významně snížila incidenci lokálních recidiv a zvýšila počet kompletních patologických remisí. Současně bylo vyšší procento toxicity při léčbě radiochemoterapií [20, 23, 25, 26]. V léčbě metastatického karcinomu tlustého střeva a konečníku se uplatnily i nová cytostatika, hlavně oxaliplatina a irinotekan [128, 129]. Proběhlo několik klinických studií, které hodnotily přínos těchto cytostatik i v předoperační radiochemoterapii karcinomu rekta. Oxaliplatina byla hodnocena v několika klinických studiích [33 - 36], jenom jediná prokázala statisticky významně vyšší počet patologických kompletních remisí po přidání oxaliplatiny. Léčebné výsledky mohly být ovlivněny i různými schématy podání 5-FU [36]. Potenciace irinotekanem neprokázala benefit ve srovnání s radioterapií potencovanou 5-FU [39]. V dnešní době není proto potenciace irinotekanem ani oxaliplatinou v předoperační radiochemoterapii indikovaná. V rámci předoperační radiochemoterapie adenokarcinomu rekta se nejčastěji používá normofrakcionační režim 1,8 – 2,0 Gy denně, 5x týdně do celkové dávky 44 – 50,4 Gy v délce trvání 5-6 týdnů. V některých Evropských zemích je tradičně využíván i tzv. krátký kurz radioterapie. Nejčastěji se aplikuje celkem 5 frakcí po 5 Gy v průběhu 5 dnů do celkové dávky 25 Gy. Léčba probíhá obvykle bez aplikace chemoterapie. Operační řešení je následně indikováno s odstupem 3 až 7 dnů, dokud se ještě výrazně nerozvinou akutní nežádoucí účinky radioterapie. Cílem zkráceného režimu není dosažení procenta léčební odpovědi, proto se používá u nemocných s resekabilním onemocněním. Zkrácený režim radioterapie byl srovnáván s normofrakcionovanou radioterapií potencovanou 5-FU v polské klinické studii. Zkrácený režim prokázal méně častý výskyt akutní toxicity stupně III a IV (3 % versus 18 %), lepší compliance pacientů (97,9 % versus 69,2 %). Pooperační morbidita byla podobná v obou skupinách pacientů (28,3 % versus 27 %). Radiochemoterapie prokázala významně vyšší výskyt kompletní patologické remise (16,4 % versus 0,7 %) a nižší pozitivní CRM (4,4 % versus 12,9 %). Celkové přežití nebo přežití bez známek nemoci bylo při mediánu sledování 48 měsíců podobné v obou ramenech [42]. Ve švédské studii předoperační zkrácený režim radioterapie prokázal vyšší procento celkového přežití a nižší výskyt lokálních recidiv ve srovnání se samotným operačním výkonem při mediánu sledování 13 let [40]. Nemocní léčení radioterapií prokázali ve výše zmíněné klinické studii výraznější vzestup počtu recidiv po 12 letech od chirurgického výkonu. Na podkladě uvedené klinické studie mohou mít benefit ze zkráceného režimu radioterapie hlavně starší nemocní s kratší předpokládanou dobou života. Nizozemská klinická studie neprokázala význam zkráceného režimu na celkové přežití.

Pacienti léčení radioterapií prokázali 5letý významně nižší výskyt lokální recidivy ve stadiu II a III. Klinické stadium I bylo bez léčebných rozdílů ve smyslu výskytu lokální recidivy [41]. Rozdíly v obou klinických studiích mohou být způsobeny také provedením totální mesorektální excize. V klinické studii švédských autorů nebyla TME standardem. Celkový výskyt lokálních recidiv ve skupině bez radioterapie byl v této studii 26%, kdežto v nizozemské klinické studii byl celkový počet lokálních recidiv 11 % při standardním provedení TME. Radioterapii nelze proto chápat jako kompenzaci neprovedení TME jako standardního výkonu. V rámci radioterapie karcinomu rekta se diskutuje i otázka dalších alternativních režimů, například hyperfrakcionace. Klinická studie RTOG II. fáze hodnotila normofrakcionovanou předoperační radiochemoterapii (45 Gy na pánev a boost v rozmezí 5,4 – 9 Gy) s hyperfrakcionací (1,2 Gy 2x den do dávky 45,6 Gy, pak boost v rozmezí 9,6 – 14,4 Gy). Potenciace byla provedena aplikací kombinace 5FU + irinotekan. Patologická kompletní remise byla podobná v obou léčebných skupinách, toxicita byla vyšší v ramenu s hyperfrakcionací [39]. Při indikaci předoperační radiochemoterapie nelze opomínat ani riziko nežádoucích účinků léčby. Otázkou je proto, zda existuje skupina pacientů, kde by radioterapie nemusela být indikovaná a pacienti by byli ušetřeni nežádoucích účinků radiochemoterapie. Nejčastěji se diskutuje skupina nemocných s tumorem T3N0M0 s postižením proximální části konečníku a dobře diferencovaným tumorem. Tento postup ale zatím nepatří ke standardům, protože část pacientů s původně T3N0 onemocněním má po histologickém vyšetření pozitivní lymfatické uzliny, i při použití endosonografie nebo magnetické rezonance v rámci vstupní diagnostiky. Klinická práce hodnotící 188 pacientů rozsahu T3N0 prokázala následně metastatické postižení lymfatických uzlin až ve 22 % po primární operační léčbě [130]. Tato skupina pacientů by měla být následně indikovaná k léčbě adjuvantní, která má v porovnání s předoperační radiochemoterapií vyšší toxicitu a horší léčebné výsledky [12]. Na druhou stranu tato německá studie prokázala, že u 18 % pacientů původně klinického stadia T3N0M0 po iniciační operační léčbě bylo nalezeno patologické stadium pT1-2pN0 s možným nadbytečným použitím předoperační radiochemoterapie [12]. V dnešní době jsou pacienti s rozsahem onemocnění T3N0M0 indikováni k předoperační radiochemoterapii. Často diskutovanou otázkou s cílem snížit toxicitu radioterapie je i možnost snížení dávky záření. Dle metaanalýzy předoperační radioterapie statisticky významně snižuje riziko lokální recidivy u pacientů, u kterých byla aplikovaná biologicky účinná dávka  $\geq 30$  Gy [4]. Jiná klinická práce hodnotila dávku 4x5 Gy místo tradičních 5x5 Gy v rámci krátkého režimu radioterapie [131]. 5letý výskyt lokální recidivy byl identický v porovnání s klinickou studií nizozemských autorů [41]. Jedním z cílů předoperační

radiochemoterapie je dosažení patologické kompletní remise. Proběhlo mnoho klinických prací, které hodnotily význam pCR na léčebné výsledky. Patologická kompletní remise se vyskytuje v rámci předoperační radiochemoterapie karcinomu rekta dle různých klinických studií v 15 – 20 % [132 – 135]. Metaanalýza klinických studií II. a III. fáze u 3157 pacientů prokázala výskyt pCR v 13,5 % [120]. V roce 2012 byla publikovaná metaanalýza 3363 pacientů (1263 pacientů s kompletní patologickou remisi, 2100 pacientů remisi nedosáhlo). U pacientů s pCR byl při mediánu sledování 55,5 měsíců pozorován 0,7 % výskyt lokální recidivy a 8,7 % výskyt vzdálených metastáz. Pětileté celkové přežití bylo zjištěno v 90,2 % a pětileté přežití bez známek nemoci v 87 %. U pacientů, kde nebyla dosažena pCR, byl významně vyšší výskyt lokálních recidiv (OR = 0,25; p=0,002), vyšší výskyt vzdálených metastáz (OR = 0,23; p < 0,001). Bylo také popsáno významně nižší procento 5letého celkového přežití (OR = 3,28; p = 0,001) a 5letého přežití bez známek recidivy (OR = 4,33; p < 0,001) [136]. Jenom jediná klinická studie z 16 hodnocených v dané metaanalýze neprokázala benefit pCR ve vztahu k celkovému přežití [137]. Jiná klinická práce popsala u pacientů, kteří dosáhli pCR výskyt lokálních recidiv v 0,9 % a výskyt vzdálených metastáz v 8,9 %. Medián času do vzniku lokální recidivy byl 26 měsíců [138]. Další klinická práce prokázala u pacientů s pCR nižší procento výskytu lokální recidivy (2,8 % versus 9,7 %) a výskytu vzdálených metastáz (11,2 % versus 25,2 %) ve srovnání s pacienty bez dosažení pCR [139]. Naopak další práce u 140 pacientů neprokázala vliv pCR na výskyt lokálních recidiv a celkového přežití při follow up 27 měsíců [140]. Další diskutovanou otázkou je, zda předoperační radioterapie má vliv na pozdější výskyt lokálních recidiv. U pacientů léčených samostatným chirurgickým výkonem bez předoperační radiochemoterapie vznik lokálních recidiv předcházel vzniku vzdálených metastáz a objevoval se nejčastěji v prvních dvou letech po operaci [141 – 144]. Zařazením předoperační radioterapie nebo radiochemoterapie byl vznik výskytu lokálních recidiv opožděn [145, 146]. Zajímavou otázkou, zda při dosažení klinické kompletní remise po předoperační radiochemoterapii je nutno provádět chirurgický zákrok, si položila klinická práce Habr-Gamy a spolupracovníků. Celkem hodnotili 265 pacientů po předoperační radiochemoterapii. Byla popsána klinická kompletní remise u 71 pacientů (26,8 %). Následně u 2,8 % pacientů vznikla endoluminální recidiva. Při pečlivé dispenzarizaci byla tato recidiva úspěšně léčená transanální resekci nebo brachyterapií. U pacientů s klinickou kompletní remisí nebyla popsána pánevní recidiva, vzdálené metastázy byly nalezeny u 4,2 % pacientů s klinickou kompletní remisí. Desetileté celkové přežití a přežití bez známek recidivy bylo popsáno ve 100 % a 86 % [147]. Na druhé straně byl v klinických pracích u pacientů s klinickou kompletní remisí popsán výskyt postižení



mesorektálních lymfatických uzlin ve 2 – 27 % po následné operaci [148 – 153]. Často diskutovanou otázkou je i hledání optimálního časového intervalu mezi předoperační radiochemoterapií a operačním řešením. Mezi ukončením předoperační radiochemoterapie a následnou operací se nejčastěji doporučuje interval 4 - 6 týdnů. V poslední době se zdá spíše tento interval prodlužovat s cílem dosažení vyššího procenta léčebné odpovědi, hlavně pCR jako prediktoru lepších léčebných výsledků [136]. V roce 2013 byla publikovaná analýza nizozemských autorů, kteří hodnotili časový interval mezi předoperační radiochemoterapií a operací u 1593 pacientů. Patologická kompletní remise byla významně častější u pacientů, kde byl interval mezi zahájením předoperační radiochemoterapie a termínem operace 15 – 16 týdnů (18 %;  $p = 0,013$ ) ve srovnání jinými intervaly (méně než 13 týdnů: 10,3 %; 13 – 14 týdnů: 13,1 %; více než 16 týdnů: 11,8 %). Procento pacientů s pCR dohromady s pacienty, kteří dosáhly downstaging na patologické stadium ypT1 ypN0 bylo také vyšší při časovém intervalu 15 -16 týdnů, ale bez statisticky signifikantního rozdílu (23,2 %;  $p = 0,124$ ) [154]. Časový interval 15 – 16 týdnů od zahájení předoperační radiochemoterapie odpovídá časovému intervalu 10 – 11 týdnů od ukončení radiochemoterapie. Tento časový interval je delší než v metaanalýze hodnotící význam pCR u 16 klinických studií na léčebné výsledky. Zde byl interval mezi ukončením radiochemoterapie a operací kratší než 10 týdnů [136]. Jedinou dosud publikovanou randomizovanou prospektivní studii, která hodnotila význam časového intervalu na léčebné výsledky, byla klinická studie Lyon R90-01, která hodnotila 210 pacientů léčených předoperační radiochemoterapií. Pacienti byli randomizováni do kratšího časového intervalu (2 týdny) nebo delšího časového intervalu (6-8 týdnů) mezi ukončením radiochemoterapie a operací. Delší interval byl signifikantně asociován s vyšším procentem pacientů s odpovědí ypT0-1 ypN0. Procento samotné pCR nebylo mezi oběma skupinami statisticky významně rozdílné. V této klinické práci byla aplikovaná dávka 39 Gy ve 13 frakcích [155]. Retrospektivní kohortová studie 397 pacientů neprokázala významný rozdíl pCR při srovnání časových intervalů (4-6 týdnů a 6-8 týdnů) mezi ukončením předoperační radiochemoterapie a operací (14 versus 15 %) [156]. Naopak další retrospektivní práce prokázala význam časového intervalu delší než 8 týdnů na procento pCR ve srovnání s kratším intervalem u 242 pacientů (30 versus 16 %) [157]. Nejednoznačnost výsledků retrospektivních studií může souviset se specifickým důvodem operace v kratším nebo delším časovém intervalu. Pacienti s regresí při prvním zhodnocení byli indikováni většinou k delšímu časovému intervalu, zatímco pacienti, kteří neprokázali regresí při prvním zhodnocení, byli většinou indikováni k časnému chirurgickému výkonu. Obvykle také nebyli hodnoceni pacienti, kteří následně nepodstoupili operaci z důvodu progresu onemocnění nebo

komplikací předoperační radiochemoterapie, kupř. v analýze výše zmíněných nizozemských autorů [154]. U částí hodnocených pacientů mohl být výsledek ovlivněn i podáním samostatné chemoterapie po ukončení předoperační radiochemoterapie. Tato skutečnost jednak mohla mít vliv na léčebnou odpověď, jednak vliv na časový odstup operačního řešení. Byla publikovaná práce, kde byl výskyt pCR zvýšen z 18 na 25 % přidáním dvou cyklů chemoterapie v režimu FOLFOX po předoperační radiochemoterapii s následním prodloužením časového intervalu k operačnímu řešení z 6 na 11 týdnů [158]. Tato analýza hodnotila také vliv časového intervalu na případnou progresi onemocnění (ypT vyšší než cT). Nebyl prokázán významný rozdíl vyššího procenta progresu onemocnění po předoperační radiochemoterapii při delším časovém intervalu [154]. V rámci hodnocení pCR je nutno také uvést jistou nejednoznačnost histologických postupů a nejednoznačnost definice pCR [159, 160]. Některé práce se také zabývaly přínosem indukční chemoterapie před zahájením vlastní předoperační radiochemoterapie. Chau s kolektivem hodnotil v pilotní klinické studii 77 pacientů. Léčení byli indukčním režimem CAPOX (oxaliplatin, kapecitabin) s následnou radiochemoterapií. Byla pozorovaná 24 % patologická kompletní remise. Podle MRI byla popsána celková léčebná odpověď po indukční chemoterapii v 88 %. Po radiochemoterapii došlo ke zvýšení léčebné odpovědi až na 97 % [161]. Klinická studie II. fáze španělských autorů randomizovala 108 pacientů jednak k indukční chemoterapii CAPOX nebo k adjuvantní chemoterapii stejného režimu. Výskyt patologické kompletní remise byl bez rozdílu (14 % versus 13 %), toxicita stupně III a IV byla významně nižší při užití indukční chemoterapie (19 % versus 54 %,  $p = 0,0004$ ) než v ramenu s adjuvantní chemoterapií [162].

## 5.2. EGFR a radioterapie karcinomu rekta

Mezi tradiční prognostické faktory karcinomu konečníku řadíme klinické stadium v době diagnózy (podle TNM klasifikace), radikalitu chirurgického výkonu, předoperační koncentraci CEA, nádorový grading, biologické vlastnosti nádoru (např. angioinvasze, mucinózní složku). V poslední době se hledají další prognostické i prediktivní faktory, hlavně s rozvojem poznání molekulární biologie. Jedním s nejvíce studovaných faktorů je receptor pro epidermální růstový faktor (EGFR). Zvýšená exprese EGFR je podle klinických studií in vitro na maligních buňkách spojena s radiorezistencí [86]. U kolorektálního karcinomu je zvýšená exprese EGFR popsána v 60 – 80 % a je spojena s horší prognózou onemocnění [71 - 73]. Zvýšená exprese EGFR byla v klinických studiích spojena se zvýšeným výskytem lokálních recidiv, kratší dobou celkového přežití, kratší dobou přežití bez známek recidivy či

vzniku vzdálených metastáz, nižším procentem patologické kompletní remise [74 - 81]. Na podkladě uvedených skutečností je jedním z léčebných cílů inhibice EGFR. Monoklonální protilátky proti EGFR cetuximab a panitumumab prokázaly účinnost v léčbě metastatického karcinomu tlustého střeva a konečníku [95 - 102]. V současné době probíhají klinické studie převážně II. fáze, které hodnotí kombinaci cetuximabu a panitumumabu s předoperační radiochemoterapií lokálně pokročilého adenokarcinomu rekta. Více dat je v hodnocení cetuximabu. Jako cytostatika se v klinických studiích používal 5-FU, kapecitabin, oxaliplatin nebo irinotekan. Dávka radioterapie byla v rozmezí 45 – 50,4 Gy. Jako hlavní cíl bylo hodnocení patologické kompletní remise jako prediktoru delšího celkového přežití a přežití bez známek recidivy [105 – 108]. V rámci hodnocení 11 klinických studií bylo ale celkové průměrné procento pCR jenom 10,7 % (0 – 25 %) [109 - 119]. Pro porovnání bylo procento pCR u samostatné radiochemoterapie v metanalýze klinických studií II. a III. fáze u 3157 pacientů 13,5 % [120]. K ozřejmění této skutečnosti bude nutné bližší porozumění vzájemné interakce mezi radioterapií, inhibitory EGFR a cytostatiky. Nyati a spolupracovníci ve své práci diskutují, zda by příčinou nemohla být suboptimální sekvence podávané léčby, která může vyústit spíše v antagonistický efekt než potenciační [163]. Bylo zjištěno, že EGFR inhibitory způsobují redistribuci buněčného cyklu bloádou v G1 fázi [62]. Po podání EGFR inhibitorů před aplikací cytostatické léčby dochází k zastavení buněčného cyklu v G1 fázi, což může mít vliv na zeslabení účinků následně podaných cytostatik s účinkem v dalších fázích buněčného cyklu. Právě cytostatika používaná v léčbě kolorektálního karcinomu (5-FU, oxaliplatin, irinotekan, kapecitabin) mají nejvíce zvýrazněný efekt na buněčný cyklus v S/G2/M fázi buněčného cyklu [111]. Další příčinou nižší patologické kompletní remise po předoperační radiochemoterapii v kombinaci s inhibitory EGFR může být snížení tumorové proliferace po aplikaci inhibitorů EGFR s následnou nižší odpovědí méně proliferujících buněk na ionizující záření [164]. Nádorové buňky taky mohou být primárně nebo sekundárně rezistentní k inhibitorům EGFR. Některé práce potvrdily, že po aplikaci inhibitorů EGFR dochází ke zvýšení exprese HER2 a HER3 receptorů, což jsou další tyrozinkinázové receptory patřící do rodiny erb-B, podobně jako EGFR. Následně dochází k jejich vzájemné heterodimerizaci s EGFR. Výsledkem je aktivace signálních drah s následnou proliferací a antiapoptickým efektem [165, 166]. Podobně byla rezistence na inhibitory EGFR spojená se zvýšením signalizace VEGFR-1 a IGF-1R drah [167 - 169]. Podobně i zvýšená produkce ligandů EGFR po léčbě inhibitory může snižovat efekt této terapie. Zvýšená exprese zvláště TGF- $\alpha$  koreluje s horší prognózou různých typů zhoubných nádorů (karcinomy plic, tlustého střeva, vaječníků) [170]. U pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem léčených

cetuximabem korelovala kratší doba přežití bez známek progresu se zvýšenou produkcí mRNA pro epiregulin a amphiregulin [171]. U pacientů s karcinomem rekta zvýšená exprese TGF- $\alpha$  po nasycovací dávce cetuximabu korelovala s nižším procentem léčebné odpovědi tumoru po léčbě cetuximabem a radiochemoterapie [123]. Tato studie neprokázala korelaci mezi dosažením léčebné odpovědi a stavem mutace genu KRAS. Tato skutečnost může souviset s rozdílnými charakteristiky karcinomů tlustého střeva ve srovnání s karcinomy konečníku [172]. Rozdílné výsledky vlivu EGFR na léčebné výsledky v různých klinických studiích mohou souviset i s metodou stanovení exprese EGFR [72 – 75, 81]. Mohou se kombinovat různé faktory jako metody odběrů, přípravy tkáňových vzorků, metoda hodnocení receptorové aktivity a jiných. Mezi základní techniky k stanovení EGFR patří: imunohistochemické zpracování, Western-blot analýza, ELISA, testy transkripce RNA nebo stanovení zvýšené exprese genů analýzou DNA (např. FISH). Nejvíce používanou metodou je imunohistochemické zpracování, která užívá i většina klinických studií hodnotící expresi EGFR. Výhodou imunohistochemického zpracování je jednoduchost, rychlost provedení, zachování tkáňové morfologie a integrity. Nevýhodou je riziko falešně negativního výsledku a subjektivnost interpretace výsledků patologem. Hodnocení exprese EGFR jsou založena na srovnání buď procentuálního rozsahu nebo intenzity imunohistochemického barvení, eventuálně jejich kombinací [77, 79, 95]. V předkládané disertační práci je exprese EGFR hodnocena semikvantitativně jako zhodnocení intenzity imunohistochemického vyšetření nejméně u 1 % buněk. Podobně byla exprese EGFR hodnocena i v klinické práci hradeckých autorů [84]. Vztah mezi proteinovou expresí a genovou amplifikací genu pro EGFR je mnohem méně prozkoumán než při vyšetřování kupř. HER2 receptorů v diagnostice zhoubných nádorů prsu. V současnosti se proto zdá, že imunohistochemie představuje asi nejlepší metodu vyšetřování EGFR [173]. Výše uvedené léčebné výsledky kombinace předoperační radiochemoterapie a inhibitorů EGFR zatím nejsou uspokojivé [109 - 119]. Podobně i využití antiEGFR terapie v adjuvantní léčbě zatím nepřineslo očekávané výsledky. Byla publikována klinická studie III. fáze, která u 2686 pacientů hodnotila přínos podání cetuximabu k režimu FOLFOX v adjuvantní léčbě zhoubného nádoru tlustého střeva a konečníku. Jako primární cíl bylo zvoleno přežití bez známek recidivy. Při mediánu sledování 28 měsíců nebyly prokázány lepší léčebné výsledky kombinace režimu FOLFOX a cetuximabu ve srovnání se samotným režimem FOLFOX [176]. Je tedy nutná další individualizace léčby. K identifikaci pacientů vhodných k potenciaci cetuximabem či další antiEGFR léčbou by mohlo pomoci studium dynamiky EGFR během předoperační radiochemoterapie [84, 174, 175]. Tato problematika byla i cílem předkládané disertační

práce. Je vhodné identifikovat skupinu pacientů se zvýšením exprese EGFR během předoperační radiochemoterapie, která by mohla mít benefit z další terapie inhibitory EGFR po chirurgickém výkonu. Prospektivní studie by v budoucnu mohly využít nejen imunohistochemii ex vivo, ale i imunohistochemii in vivo s využitím PET EGFR, která by mohla hodnotit dynamiku exprese EGFR nejen před radiochemoterapií a po ní, ale i v průběhu radiochemoterapie s časným zařazeným antiEGFR terapie do léčebného algoritmu [127].

### 5.3. Vlastní soubor

Disertační práce potvrdila svůj primární cíl a demonstrovala, že pacienti se zvýšenou expresí EGFR během předoperační radiochemoterapie prokázaly významně kratší dobu celkového přežití a přežití bez známek recidivy. Dřívější prezentované práce potvrdily, že indukované zvýšení exprese EGFR po radioterapii souvisí z akcelerovanou repopulací nádorových buněk [64, 65]. Zvýšení nádorové repopulace v průběhu radioterapie vede k obnově klonogenních nádorových buněk, čímž působí kontraproduktivně vůči samotné léčbě zářením [66 – 68]. V disertační práci byla prokázána zvýšená exprese EGFR u 12 pacientů, což tvořilo 26,1 % všech hodnocených pacientů. V roce 2012 byla prezentovaná práce Hradeckých autorů, která hodnotila vliv exprese EGFR u 53 pacientů [84]. V této klinické práci byli pacienti léčeni předoperační radiochemoterapií. Radioterapie byla potencovaná aplikací 5-FU. Byla aplikovaná dávka 45 Gy / 25 frakcích / 5x týdně. Následně byl aplikován boost 5,4 Gy. Zvýšení exprese EGFR během radiochemoterapie bylo zjištěno u 14 pacientů, což představuje 26,4 %. V obou pracích bylo EGFR stanoveno imunohistochemicky pomocí komerčně vyráběného kitu. Exprese byla hodnocena semikvantitativně jako míra intenzity imunohistochemické reakce. Hradecká studie prokázala i podobné procento pacientů, kteří dosáhli celkovou léčebnou odpověď, ve srovnání s pacienty hodnoceními v disertační práci. Výskyt patologické kompletní remise byl 2x častější v souboru předkládané disertační práce (4 versus 2 pacienti), což mohlo být způsobeno i menším počtem pacientů v obou souborech. Podobně jako výsledek disertační práce i hradecká retrospektivní studie prokázala významně kratší celkové přežití a přežití bez známek recidivy u pacientů se zvýšením exprese EGFR. Obě práce prokázaly prognostický vliv změny exprese EGFR u dvou různých skupin pacientů, léčených ve dvou různých onkologických centrech. EGFR bylo stanoveno v různých laboratořích patologie. V jednom souboru byla radioterapie potencovaná kontinuálním 5-FU, ve druhém souboru kapecitabinem, dle zvyklosti příslušného onkologického centra. V obou

pracích se potvrdil prognostický vliv dynamiky exprese EGFR, proto se nejedná o náhodu, ale o prokázanou souvislost. Obě práce potvrdily výše zmíněné radiobiologické poznatky [64 - 68]. Nebyla ale prokázána závislost exprese EGFR v endobiopsiích na celkové přežití a přežití bez známek onemocnění. Disertační práce ale prokázala v multivariační regresní analýze prognostický vliv exprese EGFR v endobiopsii. Mezi další významné faktory, které byly v multivariační analýze zjištěny patří stav exprese EGFR v resekátu, ženské pohlaví, sfinkter zachovávající operace, dosažení léčebné odpovědi. Lokální recidiva byla v hodnoceném souboru disertační práce pospaná u 8 pacientů, což představuje 16 % hodnocených pacientů. Klinická studie CAO/ARO/AIO-94 hodnotící předoperační radiochemoterapii ve srovnání s pooperační léčbou prokázala výskyt lokální recidivy při 11 letech sledování u 7,1 % pacientů [13]. Důvodem vyššího počtu lokálních recidiv v předkládaném souboru mohlo být i neprovedení totální mesorektální excize u všech pacientů. Příčinou mohlo být i to, že část hodnocených pacientů byla operovaná v menším zdravotnickém pracovišti. Význam TME na vznik lokální recidivy byl jasně zdokumentován v klinických studiích [40, 41]. V dnešní době se jedná o standardní postup a je výraznou chybou totální mesorektální excizi neprovést. Při hodnocení pacientů v disertační práci byla generalizace onemocnění prokázána u 17 pacientů, což představuje 34 %. Příčinou je zřejmě vznik časně subklinické systémové diseminace již v době diagnózy [20]. Tuto hypotézu potvrdily i další klinické práce [21, 22, 25, 42], ve kterých je nacházen přibližně stejný počet vzdálených metastáz (kolem 30 %). V předkládaném souboru 50 pacientů byla předoperační radiochemoterapie léčbou dobře tolerovatelnou. Nebylo zaznamenáno ani jedno úmrtí v souvislosti s léčbou. U 4 pacientů byla léčba kapecitabinem přerušena z důvodu hematologické toxicity. Ani u jediného pacienta nebyl popsán stupeň III nebo IV v rámci hodnocení nehematologické toxicity. Nejčastějším typem byla gastrointestinální toxicita, což souvisí jednak s léčbou aplikovanou na oblast pánve, jednak s přítomností tumoru v konečníku. Mezi klinický obraz nádorového postižení konečníku patří častější nutkání na stolicí, krvácení z konečníku, přítomnost tenesmů. Právě tyto symptomy dominovaly v době předoperační radiochemoterapie. Ani jeden pacient nebyl akutně hospitalizován z důvodu toxicity léčby. Skutečnost, že nebyl popsán stupeň III nebo IV nehematologické toxicity může souviset s menším počtem pacientů v souboru ve srovnání s počtem pacientů v klinických studiích [12]. V průběhu předoperační radioterapie karcinomu rekta, podobně jako i u jiných onkologických onemocnění léčených ozářením, jsou pacienti léčeni na Onkologickém oddělení Nemocnice Liberec pravidelně kontrolováni na ambulanci radioterapie podle léčebných standardů 1x týdně. Při objevení nežádoucích účinků léčby probíhá podpůrná

terapie s cílem omezit výše zmíněné nežádoucí účinky nebo zabránit jejich zhoršení. Mezi nejčastěji aplikované léky patřily antiemetika, probiotika, léky proti průjmu, analgetika a jiné. Anémie byla korigovaná podáním krevní transfuze. I tato skutečnost mohla mít vliv na dobrou toleranci léčby, podobně jako důsledné poučení pacientů o rizikách léčby.

## 6. Závěr

Léčebným standardem lokálně pokročilého karcinomu rekta je předoperační radiochemoterapie následovaná operačním výkonem. Léčebné výsledky stále ale nejsou uspokojivé. Je proto vhodná další individualizace léčby za využití biomarkerů, kam řadíme i receptor pro epidermální růstový faktor (EGFR). Předkládaná disertační práce hodnotila prognostický vliv změny exprese EGFR během předoperační radiochemoterapie u pacientů s lokálně pokročilým karcinomem rekta.

Primární cíl studie byl splněn. Práce prokázala významně kratší celkové přežití a přežití bez známek recidivy u pacientů se zvýšenou expresí EGFR po předoperační radiochemoterapii.

Práce dále prokázala významný prognostický vliv na celkové přežití a přežití bez známek recidivy u pacientů s pozitivitou EGFR v chirurgickém resekátu.

Disertační práce prokázala v multivariační regresní analýze prognostický vliv následujících nezávislých faktorů: Mezi významné prognostické faktory příznivě ovlivňující celkové přežití patřilo dosažení downstagingu po předoperační radiochemoterapii, ženské pohlaví, sfinkter zachovávající operace. Jako významně negativní prognostický faktor celkového přežití patřila pozitivita exprese EGFR jednak v předoperační endobiopsii, jednak v definitivním resekátu.

Výsledky prognostického vlivu změny exprese EGFR během předoperační radiochemoterapie u pacientů s lokálně pokročilým karcinomem rekta by mohli přispět k identifikaci podskupiny pacientů, kteří by mohli profitovat k časnému zařazení antiEGFR terapie do léčebného algoritmu.



## 7. Literatura

1. Dušek L, Mužík J, Kubásek M et al. *Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice* [online]. Masarykova univerzita, [2005], [cit. 2009-7-13]. Dostupný z WWW: <http://www.svod.cz>. Verze 7.0 [2007], ISSN 1802 – 8861
2. UICC. *TNM Klasifikace zhoubných novotvarů*. Nakladatelství Bomton Agency; 2011; 7. vydání, 246 str. ISBN: 978-80-904259-6-5
3. Doleželová-Horová H, Ondrová B, Šlampa P et al. *Karcinom konečníku* s. 153-162. In: Šlampa P, Petera J et al.: *Radiační onkologie*. Nakladatelství Galén Praha; Nakladatelství Karolinum Praha; 2007; 1. Vydání, 457 s. ISBN: 978-80-246-1443-4
4. Gray R, Hills R, Stowe R et al. *Adjuvant radiotherapy for rectal cancer: a systemic overview of 8507 patients from 22 randomised trials*. *Lancet* 2001; 358:1291-1304
5. Kocáková I, Soumarová R. *Chemoradioterapie karcinomu konečníku* s 62-72. In: Šlampa P, Soumarová R, Kocáková I et al. *Konkomitantní chemoradioterapie solidních nádorů*. Nakladatelství Galén 2005, 167 s. ISBN: 80-7262-276-5
6. Dvořák J, Richter I, Buka D et al. *Chemoradioterapie lokálně pokročilých karcinomů rekta*. *Kolorektální karcinom 2013, Farmakoterapie suppl.* 2013; 42-46
7. Dvořák J, Veselý P, Tomšová M et al. *Retrospektivní studie k vyhodnocení výsledků léčby a určení prognostických faktorů u nemocných ozařovaných pro adenokarcinom rekta*. *Klin Onkol* 2006; 19: 187-194
8. Grusenmeyer PA, Grubbs SS. *Developing and implementing multidisciplinary disease-specific clinics in cancer care*. *ASCO Educational Book* 2009; 45:653-658
9. Kunitake H, Abbas MA. *Transanal endoscopic microsurgery for rectal tumors: a review*. *Perm J* 2012; 16:45-20
10. Šlampa P, Lovas P. *Současný pohled na chemoradioterapii karcinomu rekta*. *Kolorektální karcinom 2009, Farmakoterapie suppl.* 2009; 44-49

11. Šlampa P, Lovas P, Lovasová Z et al. *Karcinomy konečníku s 70-78*. In: Šlampa P a kol. : *Radiační onkologie v praxi*. Masarykův onkologický ústav Brno; 2011; 3. vydání, 319 s. ISBN: 978-80-86793-19-1
12. Sauer R, Becker H, Hohenberger W et al. *Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for rectal cancer*. N Engl J Med 2004; 351: 1731-1740
13. Sauer R, Liersch T, Merkel S et al. *Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for rectal cancer: Results of the German CAO/ARO/AIO-94 Randomized Phase III Trial After a Median Follow-up of 11 Years*. J Clin Oncol 2012; 30:1926-1933
14. Richter I, Dvořák J. *Farmakoterapie metastatického kolorektálního karcinomu – současné možnosti*. Remedia 2011; 21: 42-48
15. Van Cutsem E, Borra JM, Castells A et al. *Improving outcomes in colorectal cancer: Where do we go from here?* Eur J Cancer 2013; 49: 2476-85
16. Bujko K, Kepka L, Michalski W et al. *Does rectal cancer shrinkage by preoperative radiochemotherapy increase the likelihood of anterior resection? A systemic review of randomised trials*. Radiother Oncol 2006; 80: 4-12
17. Wong RK, Tandan V, De Silva S et al. *Pre-operative radiotherapy and curative surgery for the management of localized rectal carcinoma*. Cochrane Database Syst Rev 2007; CD002102
18. Horsman MR, Wouters BG, Joiner MC et al. *The oxygen effect and fractionated radiotherapy*, s. 207-216. In: Joiner M, van der Kogel A: *Basic Clinical Radiobiology*. 4th ed. London, Edward Arnold, 2009, 375 s
19. Felzl D, Cvek J. *Klinická radiobiologie*, Nakladatelství Tobiáš; 2008, 105 s. ISBN: 978-80-7311-103-8
20. De Caluwé L, van Nieuwenhove Y, Ceelen WP et al. *Preoperative chemoradiation versus radiation alone for stage II and III resectable rectal cancer*. Cochrane Database Syst Rev 2013; 2:CD006041

21. Bosset JF, Collette L, Calais G et al. *Chemotherapy with preoperative radiotherapy in rectal cancer*. N Engl J Med 2006; 355: 1114-1123
22. Boulis-Wassif S, Gerard A, Loygue J et al. *Final results of a randomized trial on the treatment of rectal cancer with preoperative radiotherapy alone or in combination with 5-fluorouracil, followed by radical surgery*. Trial of the european Organization on Research and Treatment of Cancer Gastronintestinal Tract Cancer Group. Cancer 1984; 53: 1811-1818
23. Bosset JF, Collette L, Calais G et al. *Chemotherapy with preoperative radiotherapy in rectal cancer. EORTC Radiotherapy Group Trial 22921*. N Eng J Med 2006; 355: 1114-1123  
Erratum in: N Engl J Med 2007; 357: 728
24. Collette L, Bosset JF, den Dulk M et al. *Patients with curative resection of cT3-4 rectal cancer after preoperative radiotherapy or chemoradiotherapy: does anybody benefit from adjuvant fluorouracil-based chemotherapy? A trial of the EORTC*. J Clin Oncol 2007; 25: 4379-4386
25. Gerard JP, Conroy T, Bonnetain F et al. *Preoperative radiotherapy with or without concurrent fluorouracil and leucovorine in T3-4 rectal cancers: results of FFCD 9203*. J Clin Oncol 2006; 24: 4620-4625
26. Ceelen WP, Van Nieuwenhove Y, Fierens K et al. *Preoperative chemoradiation versus radiation alone for stage II and III resectable rectal cancer*. Cochrane Database Syst Rev 2009: CD006041
27. Shimma N, Umeda I, Arasaki M et al. *The design and synthesis of a new tumor-selective fluoropyrimidine carbamate, capecitabine*. Biorg Med Chem 2000; 8:1697-1706
28. Schuller J, Cassidy J, Dumont E et al. *Preferential activation of capecitabine in tumor following oral administration to colorectal cancer patients*. Cancer Chemother Pharmacol 2000; 45: 291-297
29. Cassidy J, Clarke S, Diaz-Rubio E et al. *Randomized phase III study of capecitabine plus oxaliplatin compared with fluorouracil/folinic acid plus oxaliplatin as first-line therapy for metastatic colorectal cancer*. J Clin Oncol. 2008; 26: 2006-2012
30. Fuschs CS, Marshall J, Mitchell E et al. *Randomized controlled trial of irinotecan plus*

*infusional, bolus, or oral fluoropyrimidines in first-line treatment of metastatic colorectal cancer: results from BICC-C Study.* J Clin Oncol. 2007; 25: 4779-4789

31. Haller DG, Tabernero J, Maroun J et al. *Capecitabine plus oxaliplatin compared with fluorouracil and folinic acid as adjuvant therapy for stage III colon cancer.* J Clin Oncol 2011; 29: 1465-1471

32. Hofheinz RD, Wenz F, Post S et al. *Chemoradiotherapy with capecitabine versus fluorouracil for locally advanced rectal cancer: a randomised, multicentre, non-inferiority, phase 3 trial.* Lancet Oncol 2012; 13: 579-588

33. Roh MS, Yothers GA, O'Connell MJ et al. *The impact of capecitabine and oxaliplatin in the preoperative multimodality treatment in patients with carcinoma of the rectum: NSABP R-04 (abstrakt).* J Clin Oncol 2011; 29(suppl): 3503

34. Aschele C, Cionini L, Lonardi S et al. *Primary tumor response to preoperative chemoradiation with or without oxaliplatin in locally advanced rectal cancer: pathologic results of the STAR-01 randomized phase III trial.* J Clin Oncol 2011; 29: 2773-2780

35. Gerard JP, Azria D, Gourgou-Bourgade S et al. *Comparison of two neoadjuvant chemoradiotherapy regimens for locally advanced rectal cancer: results of the phase III trial ACCORD 12/0405 – Prodigé 2.* J Clin Oncol 2010; 28: 1638-1644

36. Rödel C, Liersch T, Becker H et al. *Preoperative chemoradiotherapy and postoperative chemotherapy with fluorouracil and oxaliplatin versus fluorouracil alone in locally advanced rectal cancer: initial results of German CAO/ARO/AIO-04 randomised phase 3 trial.* Lancet Oncol 2012; 13: 679-687

37. Lamond JP, Wang M, Kinsella TJ et al. *Radiation lethality enhancement with 9-aminocamptothecin: comparison to other topoisomerase I inhibitors.* Int J Radiat Oncol Biol Phys 1996; 36: 369-376

38. Tamura K, Takada M, Kawase I et al. *Enhancement of tumor radio-response by irinotecan in human lung tumor xenografts.* Jpn J Cancer Res 1997; 88: 218-223

39. Mohiuddin M, Winter K, Mitchell E et al. *Randomized phase II study of neoadjuvant combined-modality chemoradiation for distal rectal cancer: Radiation Therapy Oncol Group*

*Trial 0012. J Clin Oncol 2006; 20: 519-524*

40. Folkesson J, Birgisson H, Pahlman L et al. *Swedish Rectal cancer Trial: long lasting benefits from radiotherapy on survival and local recurrence rate. J Clin Oncol 2005; 23: 5644-5650*

41. Kapiteijn E, Marijnen CA, Nagtegaal ID et al. *Preoperative radiotherapy combined with total mesorectal excision for resectable rectal cancer. N Engl J Med 2001; 345: 6386 - 6346*

42. Bujko K, Nowacki MP, Nasierowska-Guttmejer A et al. *Long-term results of a randomized trial comparing preoperative short-course radiotherapy with preoperative conventionally fractionated chemoradiation for rectal cancer. Br J Surg 2006; 93: 1215-1223*

43. Letcher JG, Lebesque JV, Aleman BM et al. *The volume effect in radiation-related late small bowel complications: results of a clinical study of the EORTC Radiotherapy Cooperative Group in patients treated for rectal carcinoma. Radioth and Oncol 1994; 32: 116-123*

44. Coia LR, Myerson RJ, Tepper JE et al. *Late effects of radiation therapy on the gastrointestinal tract. Int J of Radiat Oncol Biol Phys 1995; 31: 1213-1236*

45. Marijnen CAM, Van De Velde CJH, Putter H et al. *Impact of short-term preoperative radiotherapy on health-related quality of life and sexual functioning in primary rectal cancer: report of multicenter randomized trial. J Clin Oncol 2005; 23: 1847-1852*

46. Birgisson H, Pahlman L, Gunnarsson U et al. *Occurrence of second cancers in patients treated with radiotherapy for rectal cancer. J Clin Oncol 2005; 23: 6126-6131*

47. Sirák I, Hatlová J, Petera J et al. *Receptor pro epidermální růstový faktor a jeho úloha v radioterapii. Klin Okol 2008; 21: 338-347*

48. Willett CG, Duda DG, Czito BG et al. *Targeted therapy in rectal cancer. Oncology 2007; 21: 1055-1065*

49. Yarden Y. *The EGFR family and its ligands in human cancer: signalling mechanism and therapeutic opportunities. Eur J Cancer 2001; 37: S3-S8*

50. Uberall I, Kolar Z, Trojec R et al. *The status and role of ErbB receptors in human cancer.*

Exp Mol Pathol 2008; 84: 79-89

51. Yarden Y, Sliwkowski MX. *Untangling the ErbB signalling network*. Nat Rev Mol Cell Biol 2001; 2: 127-137

52. Lin SY, Makino K, Xia W et al. *Nuclear localization of EGF receptor and its potential new role as a transcription factor*. Nat Cell Biol 2001; 3: 802-808

53. Oksvold MP, Huitfeldt H, Stang E et al. *Localizing the EGF receptor*. Nat Cell Biol 2002; 4: E22-23

54. Waugh MG, Hsuan JJ. *EGF receptors as transcription factors: ridiculous or sublime?* Nat Cell Biol 2001; 3: E209-E211

55. Walther A, Johnstone E, Swanton C et al. *Genetics prognostic and predictive markers in colorectal cancer*. Nat Rev Canc 2009; 9: 489-499

56. Akimoto T, Hunter NR, Buchmiller L et al. *Inverse relationship between epidermal growth factor expression and radiocurability of murine carcinomas*. Clin Cancer Res 1999; 5: 2884-2890

57. Liang K, Ang KK, Milas L et al. *The epidermal growth factor receptor mediates radioresistance*. Int J Radiat Biol Phys 2003; 57: 246-254

58. Verbeek BS, Andriaansen-Slot SS, Vroom TM et al. *Overexpression of EGFR and c-erbB2 causes enhanced cell migration in human breast cancer cells and NIH3T3 fibroblasts*. FEBS Lett 1998; 425: 145-150

59. Withers HR. *The 4 R's of radiotherapy*. In: J. T. Lett and H. Alder (eds.), Advances in Radiation Biology, Vol. 5, str. 241-271. New York: Academic Press, 1975

60. Bandyopadhyay D, Mandal M, Adam L et al. *Physical interaction between epidermal growth factor receptor and DNA-dependent protein kinase in mammalian cells*. J Biol Chem 1998; 273: 1568-1573

61. Meyn RE, Munshi A, Haymach JV et al. *Receptor signalling as a regulatory mechanism of DNA repair*. Radiother Oncol 2009; 92: 316-322

62. Chinnaiyan P, Huang S, Vallabhaneni G et al. *Mechanism of enhanced radiation response*

*following epidermal growth factor receptor signaling inhibition by erlotinib (Tarceva). Cancer Res* 2005; 65: 3328-35

63. Lammering G, Valerie K, Lin PS et al. *Radiosensitization of malignant glioma cells through overexpression of dominant negative epidermal growth factor receptor. Clin Cancer Reserch* 2001; 6: 2166-2174

64. Withers HR, Taylor JM, Maciejewski B et al. *The hazard of accelerated tumour clonogen repopulation during radiotherapy. Acta Oncol* 1988; 27: 131-146

65. Baumann M, Petersen C, Eichler W et al. *Mechanism of repopulation in experimental squamos cell carcinoma. In: Kogelnik HD, Lukas P, Sedlmayer F. Progress in radiation-oncology, vol.7. Bologna, Monduzzi; 2002, s. 417-422*

66. Begg AC. *Prediction of repopulation rates and radiosensitivity in human tumours. Int J Radiat Biol* 1994; 65: 103-108

67. Fowler JF. *Rapid repopulation in radiotherapy: a debate on mechanism. The phantom of tumor treatment-continually rapid proliferation inmasked. Radiother Oncol* 1991; 22: 156-158

68. Schmitdt-Ullrich RK, Contessa JN, Dent P et al. *Molecular mechanism of radiation-induced accelerated repopulation. Radiat Oncol Investig* 1999; 7: 321-330

69. Huang SM, Harari PM. *Modulation of radiation response after epidermal growth factor receptor blockade in squamous cell carcinomas: inhibition of damage repair, cell cycle kinetics, and tumor angiogenesis. Clin Cancer Res* 2000; 6: 2166-2174

70. Zips D, Krause M, Yaromina A et al. *Epidermal growth factor receptor inhibitors for radiotherapy: biological rationale and preclinical results. J Pharm Pharmacol* 2008; 60: 1019-1028

71. Steele RJ, Kelly P, Ellul B et al. *Epidermal growth factor receptor expression in colorectal cancer. Br J Surg* 1990; 77: 1352-1354

72. Mayer A, Takimoto M, Fritz E et al. *The prognostic significance of proliferating cell nuclear antigen, epidermal growth factor receptor, and MDR gene expression in colorectal*

*cancer*. Cancer 1993; 71: 2454-2460

73. Khorana AA, Ryan CK, Cox C et al. *Vascular endothelial growth factor, CD68, and epidermal growth factor receptor expression and survival in patients with stage II and stage III colon carcinoma: a role for the host response in prognosis*. Cancer 2003; 97: 960-968

74. Azria D, Bibeau F, Barbier N et al. *Prognostic impact of epidermal growth factor receptor (EGFR) expression on loco-regional recurrence after preoperative radiotherapy in rectal cancer*. BMC Cancer 2005; 5: 62

75. Shengjin L, Jae-Sung K, Jin-man K et al. *Epidermal growth factor receptor as a prognostic factor in locally advanced rectal-cancer patients treated with preoperative chemoradiation*. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2006; 65: 705-712

76. Giralt J, de las Heras M, Cerezo L et al. *The expression of epidermal growth factor receptor results in a worse prognosis for patients with rectal cancer treated with preoperative radiotherapy*. Radiother Oncol 2005; 74: 101-108

77. Kopp R, Rothbauer E, Ruge M et al. *Clinical implications of the EGF receptor ligand system for tumour progression and survival in gastrointestinal carcinomas: evidence for new therapeutic options*. Recent Results Cancer Res 2003; 162: 115-132

78. Li S, Kim JS, Kim JM et al. *Epidermal growth factor receptor as a prognostic factor in locally advanced rectal cancer patients treated with preoperative chemoradiation*. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2006; 65: 1019-1028

79. Kim JS, Kim JM, Li S et al. *Epidermal growth factor receptor as a predictor of tumour downstaging in locally advanced rectal cancer patients treated with preoperative radiotherapy*. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2006; 66: 195-200

80. Bertolini F, Bengala C, Losi L et al. *Prognostic and predictive value of baseline and post-treatment molecular marker expression in locally advanced rectal cancer treated with neoadjuvant chemoradiotherapy*. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2007; 68: 1455-68

81. Zlobec I, Vuong T, Compton CC et al. *Combined analysis of VEGF and EGFR predicts complete tumour response in rectal cancer treated with preoperative radiotherapy*. Br J Cancer 2008; 98: 450-456



82. Bengala C, Bettelli S, Bertolini F et al. *Prognostic role of EGFR gene copy number and KRAS mutation in patients with locally advanced rectal cancer treated with preoperative chemoradiotherapy*. Brit J of Canc 2010; 103: 1019-1024
83. Spindler KL, Nielsen JN, Lindebjerg J et al. *Prediction of response to chemoradiation in rectal cancer by a gene polymorphism in the epidermal growth factor receptor promoter region*. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2006; 66: 500-504
84. Dvořák J, Sitorová V, Ryška A et al. *The prognostic significance of changes of tumour epidermal growth factor receptor expression after neoadjuvant chemoradiation in patients with rectal adenocarcinoma*. Strahlenther Onkol 2012; 10: 145-147
85. Marquardt F, Rödel F, Capalbo G et al. *Molecular targeted treatment and radiation therapy for rectal cancer*. Strahlenther Onkol 2009; 185: 371-378
86. Baumann M, Grégoire V. *Molecular-targeted agents for enhancing tumour response*, s. 287-300. In: Joiner M, van der Kogel A: Basic Clinical Radiobiology. 4th ed. London, Edward Arnold, 2009, 375 s
87. Shepherd FA., Pereira JR., Ciuleanu T et al. *Erlotinib in Previously treated Non-Small-Cell Lung Cancer*. N Engl J Med 2005, 353: 123-132
88. Johnson S, Piplej J, Pivot X et al. *Lapatinib combined with letrozole versus letrozole and placebo as first-line therapy for postmenopausal hormone receptor-positive metastatic breast cancer*. J Clin Oncol 2009; 28:1-11
89. Rothenberg ML, LaFleur B, Levy DE et al. *Randomized phase II trial of the clinical and biological effects of two dose levels of gefitinib in patients with recurrent colorectal adenocarcinoma*. J Clin Oncol 2005; 23: 9265 – 9274
90. Meyerhardt JA, Zhu AX, Enzinger PC et al. *Phase II study of capecitabine, oxaliplatin, and erlotinib in previously treated patients with metastatic colorectal cancer*. J Clin Oncol 2006; 24: 1892-1897
91. Townsley CA, Major P, Siu LL et al. *Phase II study of erlotinib (OSI-774) in patients with metastatic colorectal cancer*. Br J Cancer 2006; 94: 1136-1143
92. Van Cutsem E, Verslype C, Beale P et al. *A phase Ib dose-escalation study of erlotinib,*

*capecitabine and oxaliplatin in metastatic colorectal cancer patients. Ann Oncol* 2008; 19: 332-339

93. Williams KJ, Telfer BA, Stratford IJ et al. *ZD1839 (Iressa), a specific oral epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor potentiates radiotherapy in a human colorectal cancer xenograft model. Br J Cancer* 2002; 86: 1157-1161

94. Valentini V, De Paoli A, Gambacorta MA et al. *Infusional 5-fluorouracil and ZD 1839 (gefitinib – Iressa) in combination with preoperative radiotherapy in patients with locally advanced rectal cancer: a phase I and II trial (1839IL/0092). Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008; 72: 644-649

95. Cunningham D, Humblet Y, Siena S et al. *Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. N Engl J Med* 2004; 351: 337-345

96. Finocchiaro G, Capuzzo F, Janne PA et al. *EGFR HER2, and K-ras as predictive factors for cetuximab sensitivity in colorectal cancer. Proc Am Soc Clin Oncol* 2007; 25: 168s Abstract 4021

97. Van Cutsem E, Kohne CH, Láng I et al. *Cetuximab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorine as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: update analysis of overall survival according to tumor KRAS and BRAF mutation status. J Clin Oncol* 2011; 29: 2011-2019

98. Bokemeyer C, Bondarenko I, Makhson A et al. *Fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin with and without cetuximab in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer. J Clin Oncol* 2009; 27: 663-671

99. Maughan TS, Adams RA, Smith CG et al. *Addition of cetuximab to oxaliplatin-based first-line combination chemotherapy for treatment of advanced colorectal cancer: results of the randomised phase 3 MRC COIN trial. Lancet* 2011; 377: 2013-2114

100. Tveit KM, Guren T, Glimelius B et al. *Phase III trial of cetuximab with continuous or intermittent fluorouracil, leucovorine, and oxaliplatin (Nordic FLOX) versus FLOX alone in first-line treatment of metastatic colorectal cancer: the NORDIC-VII study. J Clin Oncol* 2012; 30: 1755-1762

101. Van Cutsem E, Peeters M, Siena S et al. *Open-label phase III trial of panitumumab plus best supportive care compared with best supportive care alone in patients with chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer*. J Clin Oncol 2007; 25: 1658-1664
102. Oliner KS, Douillard JY, Siena S et al. *Analysis of KRAS/NRAS and BRAF status in the phase III PRIME study of panitumumab (pab) plus FOLFOX versus FOLFOX as first-line treatment (tx) for metastatic colorectal cancer (mCRC)*. J Clin Oncol 2013; 31(Suppl): Abstract 3511
103. Ince WL, Jubb AM, Holden SN et al. *Association of k-ras, b-raf, and p53 status with the treatment effect of bevacizumab*. J Natl Cancer Inst 2005; 97: 981-989
104. Richman SD, Seymour MT, Cahmbers P et al. *KRAS and BRAF mutations in advanced colorectal cancer are associated with poor prognosis but not preclude benefit from oxaliplatin or irinotecan: results from the MRC FOCUS trial*. J Clin Oncol 2009; 27: 5931-5937
105. Rödel C, Martus P, Papadopoulos T et al. *Prognostic significance of tumor regression after preoperative chemoradiotherapy for rectal cancer*. J Clin Oncol. 2005; 23: 8688-8696
106. Janjan NA, Crane C, Feig BW et al. *Improved overall survival among responders to preoperative chemoradiation for locally advanced rectal cancer*. Am J Clin Oncol. 2001; 24: 107-112
107. Janjan NA, Abbruzzese J, Pazdur R et al. *Prognostic implications of response to preoperative infusional chemoradiation in locally advanced rectal cancer*. Radiother Oncol. 1999; 51: 153-160
108. Maas M, Nelemans PJ, Valentini V et al. *Long-term outcome in patients with a pathological complete response after chemoradiation for rectal cancer: a pooled analysis of individual patient data*. Lancet Oncol. 2010; 11: 835-844
109. Chung KY, Minsky B, Schrag D et al. *Phase I trial of preoperative cetuximab with concurrent continuous infusion 5-fluorouracil and pelvic radiation in patients with locally advanced rectal cancer*. J Clin Oncol 2006; 24 (18 suppl): Abstract 3560
110. Machiels JP, Sempoux C, Scalliet P et al. *Phase I/II study of preoperative cetuximab, capecitabine, and external beam radiotherapy in patients with rectal cancer*. Ann Oncol

2007; 18: 738-744

111. Rödel C, Arnold D, Hipp M et al. *Phase I-II trial of cetuximab, capecitabine, oxaliplatin, and radiotherapy as preoperative treatment in rectal cancer.* Int J Radiat Oncol Biol Phys 2008; 70: 1081-1086

112. Hofheinz RD, Horisberger K, Woernle C et al. *Phase I trial of cetuximab in combination with capecitabine, weekly irinotecan, and radiotherapy as neoadjuvant therapy for rectal cancer.* Int J Radiat Oncol Biol Phys 2006; 66: 1384 – 1390

113. Horisberger K, Treschl A, Mai S et al. *Cetuximab in combination with capecitabine, irinotecan, and radiotherapy for patients with locally advanced rectal cancer: results of a Phase II MARGIT trial.* Int J Radiat Oncol Biol Phys 2009; 74: 1487-1493

114. Bertolini F, Chiara S, Bengala C et al. *Neoadjuvant treatment with single-agent cetuximab followed by 5-FU, cetuximab, and pelvic radiotherapy: a phase II study in locally advanced rectal cancer.* Int J Radiat Oncol Biol Phys 2009; 73: 466-472

115. Hong YS, Kim DY, Lee KS et al. *Phase II study of preoperative chemoradiation (CRT) with cetuximab, irinotecan and capecitabine in patients with locally advanced resectable rectal cancer.* J Clin Oncol 2007; 25: 18S:174s (abstrakt 4045)

116. Cabebe EC, Kuo T, Koong M et al. *Phase I trial of preoperative cetuximab in combination with oxaliplatin, capecitabine, and radiation therapy for locally advanced rectal cancer.* J Clin Oncol 2008; 26 (suppl) abstrakt 15019

117. Eisterer WM, De Vries A, Oefner D et al. *Neoadjuvant chemoradiation therapy with capecitabine plus cetuximab and external beam radiotherapy in locally advanced rectal cancer (LARC) ABCSG trial R03.* J Clin Oncol 2009; 27:15S(part I of II) 195s (abstract 4109)

118. Velenik V, Ocirk J, Oblak I et al. *Neoadjuvant cetuximab, capecitabine, and radiotherapy (RT) in locally advanced resectable rectal cancer: results of a phase II trial.* J Clin Oncol 2009; 27: (abstrakt e15029)

119. Kim SY, Hong YS, Kim DY et al. *Preoperative chemoradiation with cetuximab, irinotecan, and capecitabine in patients with locally advanced resectable rectal cancer: a multicenter phase II study.* Int J Radiat Oncol Biol Phys 2011; 81: 677-683

120. Hartley A, Ho KF, McConkey C et al. *Pathological complete response following preoperative chemoradiotherapy in rectal cancer: analysis of phase II/III trials*. Br J Radiol 2005; 78: 934-938
121. Pinto C, Di Fabio F, Maiello E et al. *Phase II study of panitumumab, oxaliplatin, 5-fluorouracil, and concurrent radiotherapy as preoperative treatment in high-risk locally advanced rectal cancer patients (StarPan/STAR-02 Study)*. Ann Oncol 2011; 22: 2424-2430
122. Bonner JA, Harari PM, Giralt J et al. *Radiotherapy plus cetuximab for squamos-cell carcinoma of head and neck*. N Engl J Med 2006; 354:567-578
123. Debucquoy A, Haustermans K, Daemen A et al. *Molecular response to cetuximab and efficacy of preoperative cetuximab-based chemoradiation in rectal cancer*. J Clin Oncol 2009; 27: 2751-2757
124. Bengala C, Bettelli S, Bertolini F et al. *Epidermal growth factor receptor gene copy number, K-ras status and pathological response to preoperative cetuximab, 5-FU and radiation therapy in locally advanced rectal cancer*. Ann Oncol 2009; 20: 469-474
125. Luna-Pérez P, Segura J, Alvarado I et al. *Specific c-K-ras gene status as a tumour-response marker in locally advanced rectal cancer treated with preoperative chemoradiotherapy*. Ann Surg Oncol 2000; 7: 727-731
126. Hirvikoski P, Auvinen A, Cummings B et al. *K-ras and p53 mutations and overexpressions as prognostic factors in colorectal carcinoma*. Anticancer Res 1999;19: 685-691
127. Mishani E, Abourbeh G. *Cancer molecular imaging: radionuclide-based biomarkers of the epidermal growth factor receptor (EGFR)*. Curr Top Med Chem 2007; 7: 1755-1772
128. Douillard JY, Cunningham D, Roth AD et al. *Irinotecan combined with fluorouracil compared with fluorouracil alone as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: a multicentre randomised trial*. Lancet 2000; 355: 2413-2423
129. de Gramont A, Figuer A, Seymour M et al. *Leukovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer*. J Clin Oncol 2000; 18: 2938-2947

130. Guillem JG, Diaz-Gonzalez JA, Minsky BD et al. *cT3N0 rectal cancer: potential overtreatment with preoperative chemoradiotherapy is warranted.* J Clin Oncol 2008; 26: 368-373
131. Saunders MP, Alderson H, Chittalia A et al. *Preoperative radiotherapy for operable rectal cancer – is a lower dose to a reduced volume acceptable?* Clin Oncol 2006; 18: 594-599
132. Chan AK, Wong A, Jenken D et al. *Posttreatment TNM staging is a prognostic indicator of survival and recurrence in tethered or fixed rectal carcinoma after preoperative chemotherapy and radiotherapy.* Int J Radiat Oncol Biol Phys 2005; 61: 665-677
133. de Campos-Lobato LF, Stocchi L, da Luz Moreira A et al. *Pathologic complete response after neoadjuvant treatment for rectal cancer decreases distant recurrence and could eradicate local recurrence.* Ann Surg Oncol 2011; 18: 1590-1598
134. Garcia-Aguilar J, Smith DD, Avila K et al. *Timing of rectal cancer response to chemoradiation for advanced rectal cancer: preliminary results of a multicenter, nonrandomized phase II prospective trial.* Ann Surg 2011; 254: 97-102
135. Smith KD, Tan D, Das P et al. *Clinical significance of acellular mucin in rectal adenocarcinoma patients with a pathologic complete response to preoperative chemoradiation.* Ann Surg 2010; 251: 261-264
136. Martin ST, Heneghan HM, Winter DC. *Systematic review and meta-analysis of outcomes following pathological complete response rate to neoadjuvant chemoradiotherapy for rectal cancer.* Brit J of Surg 2012; 99: 918-928
137. Pucciarelli S, Troppan P, Friso ML et al. *Complete pathologic response following preoperative chemoradiation therapy for middle to Lower rectal cancer is not a prognostic factor a better outcomes.* Dis Colon Rectum 2004; 47: 1998-1807
138. Capirci C, Valentini V, Cionini L et al. *Prognostic value of pathological complete response after neoadjuvant therapy in locally advanced rectal cancer: long-term analysis of 566 ypCR patients.* Int J Radiat Oncol Biol Phys 2008; 72: 99-107
139. Maas M, Nelemans PJ, Valentini V et al. *Long-term outcomes in patients with a pathological complete response after chemoradiation for rectal cancer: a pooled analysis of*

*individual patient data. Lancet Oncol* 2010; 11: 835-844

140. Onaitis MW, Noone RB, Fields R et al. *Complete response to neoadjuvant chemoradiation for rectal cancer does not influence survival. Ann Surg Oncol* 2011; 8: 801-806

141. Moore E, Heald RJ, Cecil TD et al. *Almost all five year disease free free survivors are cured following rectal cancer Surgery, but Longer term follow-up detects some late local and systemic recurrences. Colorectal Dis* 2005; 7: 403-405

142. Barras JP, Bachmann R, Aeberhard P et al. *Pattern of recurrence in rectal carcinoma: implications for the design of (future) studies on adjuvant therapy. Int J Clorectal Dis* 1993; 8: 142-147

143. Pilipshen SJ, Heilweil M, Juan SH et al. *Patterns of pelvic recurrence following definitive resection of rectal cancer. Cancer* 1984; 53: 1354-1362

144. Hurst PA, Prout WG, Kelly JM et al. *Local recurrence after low anterior resection using the staple gun. Br J Surg* 1982; 69: 275-276

145. Peeters KC, Marijnen CA, Nagtegaal ID et al. *Dutch Colorectal Cancer Group. The TME trial after a median follow-up of 6 years: increased local control but no survival benefit in irradiated patients with resectable rectal carcinoma. Ann Surg* 2007; 246: 693-701

146. Ahmad NR, Nagle D. *Long-term results of preoperative radiation therapy alone for stage T3 and T4 rectal cancer. Br J Surg* 1997; 84: 1445-1448

147. Habr-Gama A, Perez RO, Nadalin W et al. *Operative versus nonoperative treatment for stage 0 distal rectal cancer following chemoradiation therapy: long-term results. Ann Surg* 2004; 240: 711-717

148. Bedrosian I, Rodriguez-Bigas MA, Feig B et al. *Predicting the node-negative mesorectum after preoperative chemoradiation for locally advanced rectal carcinoma. J Gastrointest Surg* 2004; 8: 56-62

149. Mignanelli ED, de Campos-Lobato LF, Stocchi L et al. *Downstaging after chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer: is there more (tumor) than means the eye? Dis Colon Rectum* 2010; 53: 251-256

150. Read TE, Andujar JE, Caushaj PF et al. *Neoadjuvant therapy for rectal cancer: histologic response of the primary tumor predicts nodal status*. Dis Colon Rectum 2004; 47: 825-831
151. Seong J, Cho JH, Kim NK et al. *Preoperative chemoradiotherapy with oral doxifluridine plus low-dose oral leucovorin in irresectable primary rectal cancer*. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2001; 50: 435-439
152. Hiotis SP, Weber SM, Cohen AM et al. *Assessing the predictive value of clinical complete response to neoadjuvant therapy for rectal cancer: an analysis of 488 patients*. J Am Coll Surg 2002; 194: 131-135
153. Hughes R, Glynne-Jones R, Grainger J et al. *Can pathological complete response in the primary tumour following pre-operative pelvic chemoradiotherapy for T3-T4 rectal cancer predict for sterilisation of pelvic lymph nodes, a low risk of local recurrence and the appropriateness of local excision?* Int J Colorectal Dis 2006; 21: 11-17
154. Sloothak DAM, Geijssen DE, van Leersum NJ et al. *Optimal time interval between neoadjuvant chemoradiotherapy and Surgery for rectal cancer*. Brit J of Surg 2013; 100: 933-939
155. Francois Y, Nemoz CJ, Baulieux J et al. *Influence of the interval between preoperative radiation therapy and Surgery on downstaging and on the rate of sphincter-sparing Surgery for rectal cancer: the Lyon R90-01 randomized trial*. J clin Oncol 1999; 17: 2396
156. Lim SB, Choi HS, Jeong SY et al. *Optimal surgery time after preoperative chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancers*. Ann Surg 2008; 248: 243-251
157. Kalady MF, de Campos-Lobato LF, Stocchi L et al. *Predictive factors of pathologic complete response after neoadjuvant chemoradiation for rectal cancer*. Ann Surg 2009; 250: 582-589
158. Garcia-Aguilar J, Smith DD, Avila K et al. *Timing of rectal cancer response to chemoradiation consortium. Optimal timing of surgery after chemoradiation for advanced rectal cancer: preliminary results of multicenter, nonrandomized phase II prospective trial*. Ann Surg 2011; 254: 97-102



159. Bateman AC, Jaynes E, Bateman AR et al. *Rectal cancer staging post neoadjuvant therapy – how should the gangues be assessed?* Histopathology 2009; 54: 713-721
160. Chetty R, Gill P, Govender D et al. *International study group on rectal cancer regression grading: interobserver variability with commonly used regression grading systems.* Hum Pathol 2012; 43:1917-1923
161. Chau I, Brown G, Cunningham D et al. *Neoadjuvant capecitabine and oxaliplatin followed by synchronous chemoradiation and total mesorectal excision in magnetic resonance staging defined poor risk rectal cancer.* J Clin Oncol 2006; 24: 668-674
162. Fernandetti-Martos C, Pericay C, Aparicio J et al. *Phase II randomized study of concomitant chemoradiotherapy followed by surgery and adjuvant capecitabine plus oxaliplatin (CAPOX) compared with induction CAPOX followed by concomitant chemoradiotherapy and surgery in magnetic resonance imaging defined, locally advanced rectal cancer: Grupo cancer de recto 3 study.* J Clin Oncol 2010; 28: 859-865
163. Nyati MK, Morgan MA, Feng FY et al. *Integration of EGFR inhibitors with radiochemotherapy.* Nat Rev Cancer 2006; 6: 876-885
164. Rau B, Sturm I, Lage H et al. *Dynamic expression profile of p21WAF1/CIP1 and Ki-67 predicts survival in rectal carcinoma treated with preoperative radiochemotherapy.* J Clin Oncol 2003; 21: 3391-3401
165. Christensen JG, Schreck RE, Chan E et al. *High levels of HER-2 expression alter the ability of epidermal growth factor receptor (EGFR) family tyrosine kinase inhibitors to inhibit EGFR phosphorylation in vivo.* Clin Cancer Res 2001; 7: 4230-4238
166. Wheeler DL, Huang S, Kruser TJ et al. *Mechanism of acquired resistance to cetuximab: role of HER (ErbB) family members.* Oncogene 2008; 27: 3944-3956
167. Bianco R, Rosa R, Damiano V et al. *Vascular endothelial growth factor receptor – 1 contributes to resistance to anti-epidermal growth factor receptor drugs in human cancer cells.* Clin Cancer Res 2008; 14: 5069-5080
168. Chakravarti A, Loeffler JS, Dyson NJ et al. *Insulin-like growth factor receptor I mediates resistance to anti-epidermal growth factor receptor therapy in primary human glioblastoma*

*cells through continued activation of phosphoinositide 3-kinase signaling. Cancer Res 2002; 62: 200-207*

169. Jones HE, Goddard L, Gee JM et al. *Insulin-like growth factor-I receptor signalling and acquired resistance to gefitinib (ZD 1839; Iressa) in human breast and prostate cancer cells. Endocr Relat Cancer 2004; 11: 793-814*

170. Salomon DS, Brandt R, Ciardiello F et al. *Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies. Crit Rev Oncol Hematol 1995; 19: 183-232*

171. Khambata-Ford S, Garrett CR, Meropol NJ et al. *Expression of epiregulin and K-ras status predict disease control in metastatic colorectal cancer patients treated with cetuximab. J Clin Oncol 2007; 25: 3230-3237*

172. Frattini M, Balestra D, Suardi S et al. *Different genetic features associated with colon and rectal carcinogenesis. Clin Cancer Res 2004; 10: 4015-4021*

173. Dei Tos AP, Ellis I. *Assessing epidermal growth factor receptor expression in tumours: what is the value of current test methods? Eur J Cancer 2005; 41: 1383-1392*

174. Richter I, Dvořák J, Blüml A et al. *Vliv předoperační chemoradioterapie na změnu exprese receptoru pro epidermální růstový faktor u pacientů léčených předoperační chemoradioterapií pro lokálně pokročilý karcinom rekta. Klin Onkol 2014; 27:361-366*

175. Richter I, Dvořák J, Blüml A et al. *The prognostic significance of tumor epidermal growth factor receptor (EGFR) expression change after neoadjuvant chemoradiation in patients with rectal adenocarcinoma. Contemporary Oncology. Přijato 16.7.2014*

176. Alberts SR, Sargent DJ, Nair S et al. *Effect of oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin with or without cetuximab on survival among patients with resected stage III colon cancer: a randomised trial. JAMA 2012; 307:1383-1393*

## Seznam obrázků

- Obr. č. 1. Incidence a mortalita zhoubných nádoru konečníku
- Obr. č. 2. Zastoupení klinických stádií v roce 2010
- Obr. č. 3. Incidence zhoubných nádorů konečníku podle věku
- Obr. č. 4. EGFR a signální dráhy podle Walthera et al
- Obr. č. 5. Histologický grading adenokarcinomů
- Obr. č. 6. Anatomická sublokalizace distálního okraje tumoru
- Obr. č. 7. Charakteristika souboru – klinická stadia
- Obr. č. 8. Cílové objemy v předoperační radioterapii pro adenokarcinom rektu
- Obr. č. 9. Izodozový plán předoperační radioterapie karcinomu rektu
- Obr. č. 10. Prostorový tvar cílového objemu z pohledu BEV
- Obr. č. 11. Supinační poloha pacienta při ozáření
- Obr. č. 12. Hodnocení intenzity exprese EGFR: EGFR 0, zvětšení 200x
- Obr. č. 13. Hodnocení intenzity exprese EGFR: EGFR 1+, zvětšení 200x
- Obr. č. 14. Hodnocení intenzity exprese EGFR: EGFR 2+, zvětšení 200x
- Obr. č. 15. Hodnocení intenzity exprese EGFR: EGFR 3+, zvětšení 200x
- Obr. č. 16. Patologické klinické stadium dle TNM klasifikace
- Obr. č. 17. Léčebná odpověď po předoperační radiochemoterapii
- Obr. č. 18. Celkové přežití 50 pacientů v souboru
- Obr. č. 19. Přežití bez známek recidivy 50 pacientů v souboru.
- Obr. č. 20. Vliv exprese EGFR v endobiopsii na celkové přežití
- Obr. č. 21. Vliv exprese EGFR v endobiopsii na přežití bez známek recidivy
- Obr. č. 22. Vliv exprese EGFR v resekátu na celkové přežití
- Obr. č. 23. Vliv exprese EGFR v resekátu na přežití bez známek recidivy
- Obr. č. 24. Vliv změny exprese EGFR na celkové přežití
- Obr. č. 25. Vliv změny exprese EGFR na přežití bez známek recidivy
- Obr. č. 26. Hematologická toxicita pacientů léčených předoperační radiochemoterapií (%).

## Seznam tabulek

- Tab. č. 1. Přínos radioterapie v porovnání se samotnou chirurgickou léčbou
- Tab. č. 2. Klinické studie hodnotící předoperační radiochemoterapii s předoperační radioterapií

Tab. č. 3. Výsledky metaanalýzy hodnotící předoperační radiochemoterapii ve srovnání se samotnou radioterapií

Tab. č. 4. Výsledky klinické studie NSABP R0-4. Porovnání 5-FU a kapecitabinu bez ohledu na podání oxaliplatiny

Tab. č. 5. Výsledky klinické studie NSABP R0-4. Přínos oxaliplatiny na léčebné výsledky a toxicitu bez ohledu na kombinaci s 5-FU nebo kapecitabinu

Tab. č. 6. Výsledky klinické studie Swedish Rectal Cancer Trial

Tab. č. 7. Přehled klinických studií hodnotících zkrácený režim radioterapie.

Tab. č. 8. Porovnání toxicity předoperační a pooperační radiochemoterapie podle klinické studie CAO/ARO/AIO-94

Tab. č. 9. Cetuximab v předoperační léčbě adenokarcinomu rekta

Tab. č. 10. Charakteristika souboru podle pohlaví

Tab. č. 11. Charakteristika souboru podle věku

Tab. č. 12. Laboratorní ukazovatele v hodnoceném souboru

Tab. č. 13. Typ a radikalita chirurgického výkonu

Tab. č. 14. Exprese EGFR v endobiopsii

Tab. č. 15. Exprese EGFR v resekátu

Tab. č. 16. Změna exprese EGFR v souboru

Tab. č. 17. Multivariační analýza nezávislých faktorů na celkové přežití

Tab. č. 18. Hodnoty nadiru hemoglobinu, leukocytů a trombocytů

